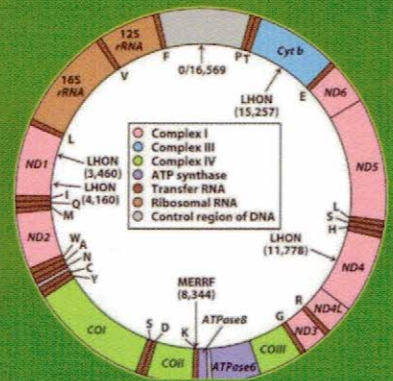
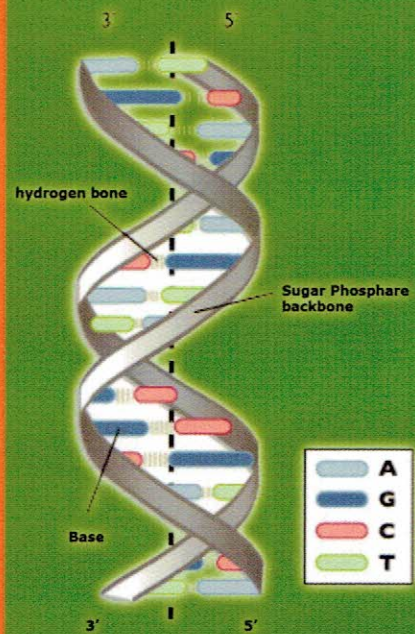


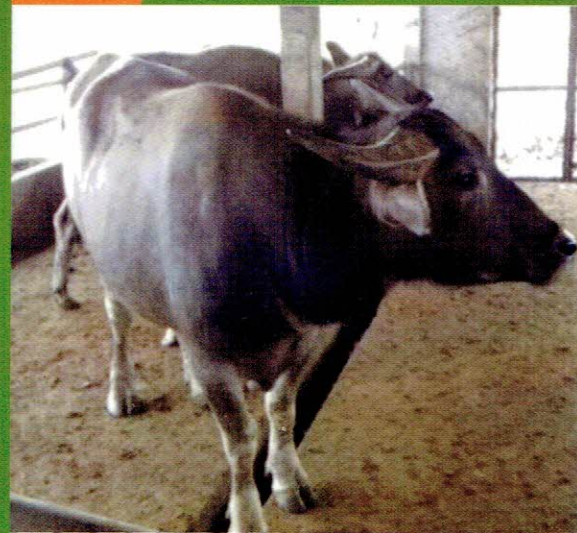
# LAPORAN HASIL PENELITIAN Cluster Madya

**UJI KUALITATIF DAN KUANTITATIF HASIL  
ISOLASI DNA BERASAL DARI DARAH,  
FECES DAN URINE PADA TERNAK SAPI,  
KERBAU DAN KAMBING**



**Tim Peneliti**  
**Dr. Hidayati, S.Pt.,M.P. (Ketua)**  
**Tahrir Aulawi, S.Pt.,M.P. (Anggota)**

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN MASYARAKAT  
UIN SULTAN SYARIF KASIM RIAU PEKANBARU 2016**







**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SULTAN SYARIF KASIM RIAU**  
**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT**

هيئة البحوث وخدمة المجتمع

**INSTITUTE FOR RESEARCH AND COMMUNITY SERVICE**

Alamat: Jl. H. R. Soebrandt No. 155 KM 15 Simpang Baru Panam Pekanbaru 28293 PO. Box. 1004 Web: [lppm.uin-suska.ac.id](http://lppm.uin-suska.ac.id), Email: [lppm@uin-suska.ac.id](mailto:lppm@uin-suska.ac.id)

**PENGESAHAN**

Nomor: Un.04/L.I/TL.01//2016

Judul : Uji KUalitatif dan Kuantitatif Isolasi DNA Berasal dari Darah, Feces dan Urine Pada Ternak Sapi, Kerbau dan Kambing

Peneliti Utama : Dr. Hidayati, S.Pt.,M.P.

Anggota : 1. Tahrir Aulawi, S.Pt.,M.Si  
2. Yuni Widiyati

Pangkat/Gol : Penata Tk. I/ III d

Fakultas/Unit : Pertanian dan Peternakan/UIN Suska Riau

Kluster Penelitian : Madya

Lokasi : Pekanbaru


Waktu : Bulan Juni s.d Nopember 2016

Telah diseminarkan pada  
Hari/Tanggal: Rabu, 23 Nopember 2016

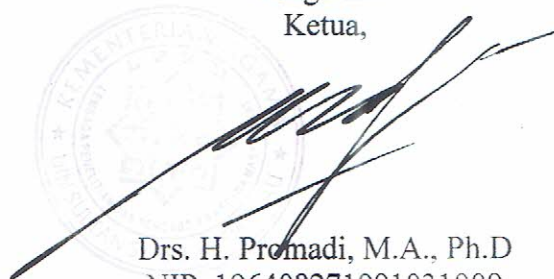
Narasumber,

  
Dr. Zulfikar, M.P.

Peneliti Utama,

  
Dr. Hidayati, S.Pt.,M.P.

Mengetahui:  
Ketua,

  
Drs. H. Promadi, M.A., Ph.D.  
NIP. 196408271991031009

## DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN .....	i
DAFTAR ISI .....	ii
DAFTAR GAMBAR.....	iii
DAFTAR TABEL .....	iv
KATA PENGANTAR.....	vi
RINGKASAN .....	vii
 I. PENDAHULUAN .....	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan Penelitian .....	3
1.4. Manfaat dan Urgensi Penelitian.....	3
 II. TINJAUAN PUSTAKA.....	 5
2.1. DNA ( <i>Deoxyribonuklease Acid</i> ).....	5
2.2. Metode Isolasi DNA .....	9
2.3. Uji Kualitatif DNA.....	12
2.4. Uji Kuantitatif DNA.....	14
 III. MATERI DAN METODE .....	 16
3.1. Waktu dan Tempat.....	16
3.2. Materi dan Alat.....	16
3.3. Prosedur Penelitian Tahap I.....	17
3.4. Prosedur Penelitian Tahap II .....	22
 IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	 25
4.1. Pengambilan Sampel Darah, Urine dan Feces Sapi Bali.....	25
4.2. Pengambilan Sampel Darah, Urine dan Feces Kambing PE .....	27
4.3. Pengambilan Sampel Darah, Urine dan Feces Kerbau Lumpur .....	28
4.4. Prosedur Preparasi Sampel Darah, Feces dan Urine .....	31
4.5. Hasil Isolasi DNA Sapi Bali, Kambing Peranakan Ettawa dan Kerbau Lumpur.....	32
4.6. Hasil Isolasi DNA Sapi Bali dari Feces dengan Lama Waktu Penyimpanan Berbeda.....	34
4.7. Hasil Uji Kualitatif DNA Hasil Isolasi dari Darah dan Feces Sapi Bali , Kambing PE serta Kerbau Lumpur.....	35
4.8. Hasil Uji Kualitatif DNA Hasil Isolasi dari Darah dan Feces dengan Lama Waktu Penyimpanan Yang Berbeda.....	39
4.9. Hasil Uji Kualitatif DNA Hasil Isolasi dari Urine.....	41
4.10. Konsentrasi dan Kemurnian DNA Hasil Isolasi Darah dan Feces Sapi Bali.....	42
4.11. Konsentrasi dan Kemurnian DNA Hasil Isolasi Darah dan Feces Kambing Peranakan Ettawa.....	45
4.12. Konsentrasi dan Kemurnian DNA Hasil Isolasi Darah dan Feces Sapi Bali dengan Lama Waktu Penyimpanan Yang Berbeda.....	46

V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	50
5.1. Kesimpulan.....	50
5.2. Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA.....	52
LAMPIRAN	



## DAFTAR GAMBAR

2.1. Ikatan Hidrogen yang Menyatukan Basa Purin dan Pirimidin.....	5
2.2. DNA Inti Berbentuk <i>Double Helix</i> .....	6
2.3. Letak dan Bentuk DNA Mitochondria.....	7
2.4. Tipe-tipe DNA Inti .....	9
2.5. Gambar Hasil Isolasi DNA .....	13
2.6. Hasil Uji Kualitatif dari Beberapa Sumber Materi DNA pada Manusia	14
3.1. Skema Tahapan Penelitian .....	18
3.2. Tahapan Isolasi DNA.....	20
3.3. Prosedur Uji Kualitatif.....	21
3.4. Skema Penelitian Tahap II .....	23
4.1. Pengambilan Sampel Darah dan Feces Sapi Bali.....	25
4.2. Pengambilan Sampel Darah dan Penampungan Urine Kambing PE .....	28
4.3. Pengambilan Sampel Darah, Feces dan Urine Kerbau Lumpur.....	29
4.4. Hasil Isolasi DNA dari Darah dan Feces Sapi Bali.....	33
4.5. Isolasi DNA dari Darah dan Feces Kambing PE.....	33
4.6. Isolasi DNA dari Darah dan Feces Kerbau Lumpur.....	33
4.7. Isolasi DNA dari Feces Sapi Bali dengan Waktu Lama Penyimpanan Berbeda .....	35
4.8. Hasil Uji Kualitatif Hasil Isolasi DNA dari Darah dan Feces Sapi Bali	37
4.9. Hasil Uji Kualitatif Hasil Isolasi DNA dari Darah dan Feces Kambing PE .....	37
4.10. Hasil Uji Kualitatif Hasil Isolasi DNA dari Darah dan Feces Kerbau .	38
4.11. Hasil Uji Kualitatif dari Beberapa Sumber Materi DNA.....	39
4.12. Hasil Uji Kualitatif Feces Sapi Bali dengan Lama Waktu Penyimpanan Berbeda .....	39
4.13. Hasil Elektroforesis DNA Berasal dari <i>Bucal swabs</i> .....	41
4.14. Hasil Uji Kualitatif dari Sampel Urine .....	41
4.15. Konsentrasi DNA Hasil Isolasi Darah dan Feces Sapi Bali.....	43
4.16. Kemurnian DNA Hasil Isolasi Darah dan Feces Sapi Bali.....	44
4.17. Konsentrasi DNA Hasil Isolasi Darah dan Feces Kambing PE .....	45
4.18. Kemurnian DNA Hasil Isolasi Darah dan Feces Kambing PE .....	46
4.19. Konsentrasi DNA Feces dengan Lama Penyimpanan Berbeda .....	47
4.20. Kemurnian DNA Feces dengan Lama Penyimpanan Berbeda .....	48

## DAFTAR TABEL

2.1. Perbedaan Karakteristik DNA Inti dan DNA Mitokondria .....	8
2.2. Tipe-Tipe Bentuk DNA .....	8
4.1. Morfometrik sapi Bali di BIBD Tenayan Kota Pekanbaru.....	26
4.2. Nilai Rataan Morfometrik Banteng .....	26
4.3. Nilai Rataan Morfometrik Sapi Bali.....	27
4.4. Morfometrik Kerbau Lumpur di Kabupaten Kampar.....	30
4.5. Panjang Badan Kerbau di Beberapa Daerah di Indonesia .....	30
4.6. Konsentrasi dan Kemurnian DNA dari Darah dan Feces .....	46
4.7. Hasil Uji t Lama Waktu Simpan Feces Terhadap Konsentrasi dan Kemurnian Hasil Isolasi DNA .....	48



## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia Nya sehingga dapat diselesaikannya laporan penelitian ini dengan judul **“UJI KUALITATIF DAN KUANTITATIF ISOLASI DNA BERASAL DARI DARAH, FECES DAN URINE PADA TERNAK SAPI, KERBAU DAN KAMBING”**. Laporan ini disusun dalam rangka melaksanakan salah satu point dari Tri Dharma Perguruan Tinggi yaitu di bidang penelitian. Penelitian ini didanai oleh Lembaga Penelitian dan Pengembangan Masyarakat UIN Suska Riau Tahun 2016. Ucapan terima kasih penulis tujukan kepada;

1. Rektor UIN Suska Riau melalui kepala LPPM UIN Susa Riau atas bantuan dana penelitian yang diberikan
2. Kepala Dinas Pertanian dan Peternakan Provinsi Riau atas izin penelitian di BIBD Tenayan
3. Kepala BIBD Tenayan Bapak Ir. Fauzun beserta staf atas bantuan tenaga dalam pengambilan sampel darah sapi bali
4. Pimpinan Peternakan Kambing Alam Raya Kulim Pekanbaru atas izin pengambilan sampel darah, feces dan urine kambing PE
5. Peternak kerbau di Kota pekanbaru atas izin pengambilan darah, feces dan urine
6. Narasumber dalam Seminar Hasil Penelitian
7. Kepala Laboratorium biologi IPB analisis DNA menggunakan spektrofotometri
8. Tim Mahasiswa yang terlibat dalam penelitian ini yaitu Nora Delita, Yuni Widiyati, Safrison dan Selly atas kerjasamanya dalam penelitian ini

Penulis menyadari bahwa laporan penelitian ini belumlah sempurna, untuk itu kritikan dan saran membangun diharapkan dari semua pihak untukn kebaikan penulisan di masa yang akan datang. Semoga laporan ini bermanfaat bagi yang membacanya.

Pekanbaru, Desember, 2016

Penulis

## RINGKASAN

UJI KUALITATIF DAN KUANTITATIF ISOLASI DNA BERASAL DARI DARAH, FECES DAN URINE PADA TERNAK SAPI, KERBAU DAN KAMBING. Hidayati dan Tahrir Aulawi

DNA merupakan cetak biru (*blue print*) makhluk hidup. Hal ini dijelaskan dalam Al Quran pada surat ke-82, *Al Infithaar* ayat 8 dan QS. 'Abasa ayat 19. Pada prinsipnya, hampir semua tubuh ternak dapat digunakan sebagai material DNA yaitu darah, jaringan, akar rambut, akar bulu, gigi, tulang, sel kulit, organ otot, saliva, mukosa, kuku, urin dan feses, namun kuantitas atau jumlah DNA yang dihasilkan oleh setiap bagian tubuh tidak sama. Darah merupakan material DNA yang paling umum dan mudah diisolasi dengan hasil DNA cukup baik. Pengambilan sampel darah pada ternak yang dipelihara secara ekstensif karena perlu handling yang tepat dan tidak tersedianya kandang jepit di lapangan. Untuk itu perlu dicari alternatif lain sumber-sumber material DNA yang dapat digunakan untuk isolasi DNA yaitu menggunakan *non invasis samples* diantaranya adalah melalui feses dan urine. Materi dalam penelitian ini adalah sapi bali (5 ekor), kambing peranakan etawa (5 ekor) dan kerbau (5 ekor). Isolasi DNA dilakukan menggunakan DNA kit. Preparasi sampel disesuaikan dengan jenis sumber materi DNA. Uji kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarose 1.5% dan uji kuantitatif menggunakan spektrofotometer, yang terlebih dahulu sampel dipreparasi tergantung jenis sampel yang digunakan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Feces dapat dijadikan sebagai alternatif sumber materi DNA selain darah pada ternak sapi bali, kambing peranakan etawa dan kerbau lumpur. Konsentrasi DNA hasil isolasi dari sumber materi feses pada sapi bali (50.825 – 110.925 ng/ $\mu$ L) dan kambing peranakan etawa (36.05 – 88.23 ng/ $\mu$ L) lebih tinggi dibandingkan hasil isolasi dari darah sapi bali (10.075 – 23.075 ng/ $\mu$ L) dan darah kambing peranakan etawa (16.65 – 36.05 ng/ $\mu$ L). Kemurnian DNA hasil isolasi dari sumber materi feses pada sapi bali (0.49 – 0.54) dan kambing peranakan etawa (0.485 – 1.151) lebih rendah dibandingkan hasil isolasi dari darah sapi bali (0.97 – 1.28) dan darah kambing peranakan etawa (1.23 – 1.372). Lama penyimpanan feses sapi bali sampai 21 hari dapat menurunkan konsentrasi DNA dan meningkatkan tingkat kemurnian DNA yang dihasilkan. Lama penyimpanan feses 1 hari pada suhu 5°C, memberikan konsentrasi yang tertinggi yaitu 146.175 ng/ $\mu$ L lebih tinggi daripada penyimpanan 7 hari (61.960 ng/ $\mu$ L), 14 hari (44.08 ng/ $\mu$ L) dan 21 hari (40.220 ng/ $\mu$ L). Konsentrasi DNA dengan lama penyimpanan 7 hari, 14 hari dan 21 hari tidak berbeda walau secara angka menunjukkan penurunan konsentrasi. Lama penyimpanan feses 1 hari pada suhu 5°C, memberikan kemurnian DNA yang terendah yaitu 0.724 lebih rendah daripada penyimpanan 7 hari (1.015), 14 hari (0.985) dan 21 hari (0.949). Kemurnian DNA dengan lama penyimpanan 7 hari, 14 hari dan 21 hari tidak berbeda. Kemurnian DNA yang didapatkan dalam penelitian ini lebih rendah daripada nilai kemurnian DNA ideal yaitu berkisar antara 1.8-2.0.

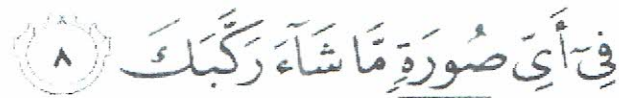
Keywords: DNA, Feces, Urine, Darah, Kambing, Kerbau, Isolasi, Sapi



## I. PENDAHULUAN

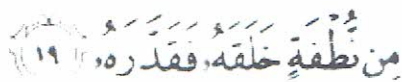
### 1.1. Latar Belakang

DNA (*Deoxyribonucleic acid*) merupakan unit keturunan terkecil yang diturunkan dari satu generasi ke generasi berikutnya, dimana setiap inti sel akan mengandung rangkaian molekul DNA yang panjang kurang lebih tiga miliar pasang basa yang mengandung berbagai macam gen yang akan mengkodekan protein-protein tertentu, pembentuk jaringan atau metabolisme dalam tubuh sehingga dapat berfungsi secara normal. DNA merupakan cetak biru (*blue print*) makhluk hidup. Hal ini dijelaskan dalam Al Quran pada surat ke-82, Al Infithaar ayat 8.



Artinya : "dalam **gambar** apa saja yang Dia kehendaki, Dia menyusun tubuhmu" (QS Al Infithaar : 8).

Gambaran atau cetakan yang dimaksud adalah DNA manusia, yang tidak lain adalah firman atau kehendak Allah SWT (rancangan) yang ditanamkan dalam sel setiap makhluk.



Artinya : "Dari setetes mani, Allah menciptakannya lalu **menentukannya**" (QS. 'Abasa : 19).

Pada prinsipnya, hampir semua tubuh ternak dapat digunakan sebagai material DNA yaitu darah, jaringan, akar rambut, akar bulu, gigi, tulang, sel kulit, organ otot, saliva, mucosa, kuku, urin dan feses (Sutrisno, *et al.*, 2013) namun kuantitas atau jumlah DNA yang dihasilkan oleh setiap bagian tubuh tidak sama. Darah merupakan material DNA yang paling umum dan mudah diisolasi dengan hasil DNA cukup baik. Hidayati, *et al.* (2015a) melaporkan penggunaan darah total sebagai material isolasi DNA dari ternak sapi kuantan, sapi pesisir dan kerbau. Begitu juga telah dilaporkan penggunaan darah untuk isolasi DNA pada ayam arab, ayam petelur dan ayam kampung (Hidayati, *et al.*, 2015b), domba ekor tipis sumatera (Hidayati, *et al.*, 2014) dan domba garut (Hidayati, *et al.*, 2015c) yang menunjukkan hasil yang baik.

Teknik pengambilan darah ternak sangat bervariasi dan tergantung pada jenis ternak, faktor keselamatan, kenyamanan ternak (*animal welfare*), serta efektifitas pelaksanaan sampling. Cakupan teknik pengambilan darah adalah lokasi pengambilan darah, teknik pengambilan darah serta jumlah darah yang digunakan (Sutrisno, *et al.*, 2013). Pada sapi, kerbau dan kambing lokasi pengambilan darah dilakukan pada vena jugularis yang terletak pada daerah ventrolateral leher dengan jumlah darah 1 ml – 10 ml.

Permasalahan yang muncul dalam pengambilan darah ternak sebagai sumber material DNA adalah pada umumnya ternak-ternak pada peternakan rakyat yang dijadikan sampel dalam penelitian di Provinsi Riau merupakan ternak yang dipelihara secara ekstensif (dilepas pada padang penggembalaan/padang rumput secara terus menerus) atau semi intensif (pagi ternak dilepas pada padang penggembalaan, dan sore menjelang malam ternak dikandangkan). Ternak yang biasa dilepas, tidak



dikandangkan secara terus menerus memiliki tingkah laku yang liar dan bersifat agresif terhadap orang asing yang mendekat sehingga menyulitkan dalam melakukan penanganannya (*handling*) (Hidayati, *et al.*, 2011; Hidayati, *et al.*, 2015a). Selain itu di lapangan/peternakan rakyat, jarang atau malah tidak pernah ditemukan kandang jepit yang merupakan salah satu alternatif untuk memudahkan dalam melakukan *handling* dalam pengambilan sampel darah di lapangan

Untuk itu perlu dicari alternatif lain sumber-sumber material DNA yang dapat digunakan untuk isolasi DNA yaitu menggunakan *non invasis samples* diantaranya adalah melalui feses dan urine. Penggunaan feces sebagai sumber materi DNA telah banyak dilakukan peneliti terutama pada hewan-hewan liar (*wild animal*) seperti yang dilaporkan oleh Frantzen, *et al.* (1998) pada baboon; Melanie, *et al.* (2002) pada beruang; Nsubaga (2004) pada gorilla.

Begitu juga dengan penggunaan urine. Hilhorst, *et al.* (2013) dan Ghatak, *et al.* (2013), melaporkan penggunaan urine untuk mengisolasi DNA manusia. Yudianto dan Sisпитasari (2016) berhasil mengisolasi DNA dari bercak urine manusia sebagai pemeriksaan identifikasi personal pada manusia dan melaporkan bahwa lama waktu penyimpanan sampel bercak urine yang disimpan pada suhu ruang sampai hari ke-20 akan mengalami penurunan konsentrasi DNA hasil isolasi. Sejauh ini penggunaan feses dan urin pada ternak sebagai sumber material DNA masih belum banyak dilaporkan.

## **1.2. Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. Mengetahui sumber materi DNA (darah, feces dan urine) yang terbaik dari sapi, kerbau dan kambing.
2. Mengetahui waktu penyimpanan terbaik dari sampel feces sapi bali yang tidak mempengaruhi kualitas DNA yang dihasilkan.
3. Membandingkan tingkat keberhasilan isolasi DNA dari sampel darah, feces dan urine pada sapi, kerbau dan kambing.

### **1.3. Manfaat dan Urgensi Penelitian**

Manfaat atau urgensi penelitian ini adalah;

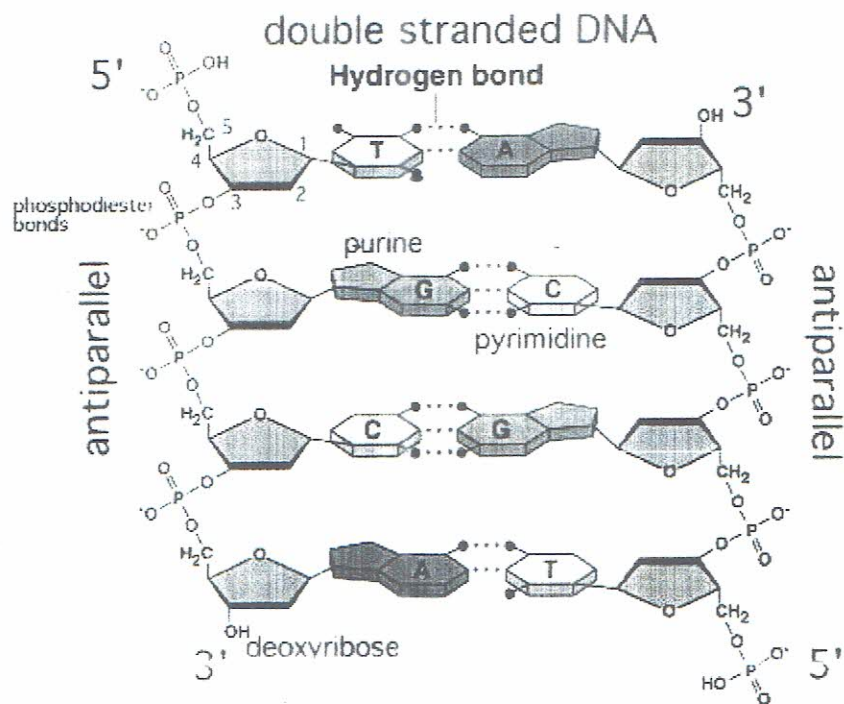
1. Ditemukannya prosedur preparasi sampel feces dan urine untuk isolasi DNA pada ternak sapi, kerbau dan kambing.
2. Mengetahui waktu penyimpanan feces sebagai sumber materi DNA dari sapi, sehingga dapat diaplikasikan juga pada hewan ternak lain yang dipelihara bebas sehingga untuk pengambilan material DNAny tidak harus berupa darah.
3. Memberikan kemudahan kepada peneliti untuk melakukan pengambilan sumber material DNA dan menghindari terjadinya luka/kecelakaan bagi hewan ternak ataupun bagi peneliti.



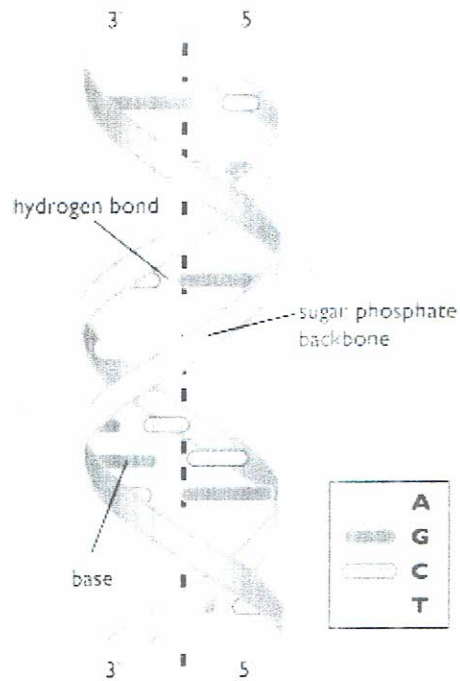
## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. DNA (*Deoxyribonuklease Acid*)

*Deoxyribonuklease acid* merupakan untaian basa-basa nukleotida yang terdiri atas Adenin (A), Guanine (G), Timina (T) dan Sitosin (C) yang melekat pada gula posfat, terbentang membentuk suatu sekuens polinukleotida. Dalam keadaan normal setiap nukleotida akan berpasangan dengan pasangannya. Basa purin selalu berpasangan dengan basa pirimidin yaitu Adenin berpasangan dengan Timina, Guanin berpasangan dengan Sitosin melalui ikatan Hidrogen (Gambar 2.1) membentuk suatu heliks ganda (*double helix*) pada DNA inti (Gambar 2.2).



Gambar 2.1 Ikatan Hidrogen yang menyatukan basa purin dan basa pirimidin



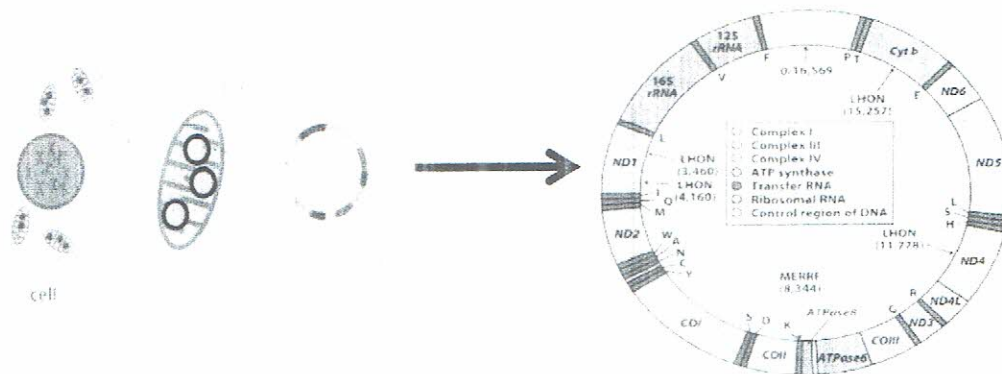
Gambar 2.2 DNA Inti berbentuk *double heliks*

Serangkaian nukleotida dapat terbentuk melalui ikatan hidroksi (OH) pada karbon 3' dari suatu pentosa dan gugus fosfat pada karbon 5' dari pentose sebelah lainnya. Basa Nitrogen dari setiap nukleotida akan berpasangan dengan basa nitrogen dari nukleotida pada rangkaian pasangannya, dimana adenina dan timina memiliki 2 ikatan hidrogen sedangkan guanine dan sitosin memiliki 3 ikatan hidrogen sehingga pasangan G-C lebih stabil dibandingkan A-T. Berbeda dengan DNA mitokondria yang ditemukan pada sitoplasma sel, sekuens DNA berbentuk sirkuler dan terdiri atas *single strand* (Gambar 2.3).

Perbedaan karakteristik DNA inti dan DNA mitokondria disimpulkan pada Tabel 2.1. Sekuens DNA inti selalu berpasangan sehingga suatu sekuens merupakan komplemen bagi sekuens pasangannya sehingga kedua sekuens tersebut secara anti paralel memungkinkan kedua untai dapat melakukan replikasi (perbanyakan) dimana



setiap untai akan menjadi cetakan bagi pasangannya yang lain. Masing-masing untai baru juga dapat berperan sebagai cetakan bagi sintesis DNA selanjutnya. Prinsip inilah yang digunakan dalam proses perbanyakan DNA menggunakan mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*).



Gambar 2.3 Letak dan Bentuk DNA Mitokondria

Ditemukan 3 tipe DNA inti yaitu tipe B DNA (ditemukan oleh Watson dan Crick Tahun 1953), tipe A DNA dan tipe Z DNA (Gambar 4.4). Karakteristik masing-masing tipe DNA inti disajikan pada Tabel 2.2. DNA tipe Z adalah satu-satunya DNA yang untaiannya mempunyai orientasi putar kiri memiliki hanya satu lekukan dan kepekatan muatan negative yang lebih besar dibandingkan dengan lekukan tipe B (Yuwono, 2012). DNA tipe Z ditemukan pada kromosom *Drosophila* yang berikatan dengan suatu jenis protein tertentu (Gambar 2.4).

DNA terdiri atas 2 bagian yaitu gen dan bagian yang bukan gen. Gen merupakan sekuens DNA yang mengandung satuan informasi genetik yang dapat diturunkan kepada generasi berikutnya berada pada lokus yang terdapat dalam kromosom tertentu yang dapat mengatur karakteristik individu baik secara fisik maupun psikis. Gen ditemukan di DNA merupakan cetakan biru (*blue print*)

kehidupan makhluk hidup. Bagian gen yang dapat menyandikan serangkaian asam amino disebut ekson dan bagian yang tidak menyandikan asam amino disebut dengan intron. Selain bagian ekson dan intron ditemukan juga daerah regulator yang berperan dalam proses translasi DNA menjadi RNA yang dikenal dengan sebutan daerah promotor dan poly A signal.

Tabel 2.1 Perbedaan Karakteristik DNA Inti dan DNA Mitokondria

Karakteristik	DNA Inti	DNA Mitokondria
Ukuran genom	~ 3.2 milyar pb	~ 16.569 pb
Jumlah kopi/sel	2 (1 alel setiap tetua)	>1000
Total DNA/sel	99.75%	0.25%
Struktur	Linear	Sirkuler
Pewarisan	Ibu dan Bapak	Ibu
Pasangan Kromosom	Diploid	Haploid
Rekombinasi	Ya	Tidak
Replikai	Ya	Tidak
Laju Mutasi	Rendah	Tinggi $\pm$ 5-10 kali lipat DNA Inti
Letak	Inti Sel	Sitoplasma
Struktur DNA	Terdiri atas bagian yang menyandikan protein dan yang tidak menyandikan protein	berisi 13 gen penyandi protein, 22 gen transfer RNA (tRNA), 2 gen ribosoma (rRNA), dan daerah <i>D-Loop</i> .

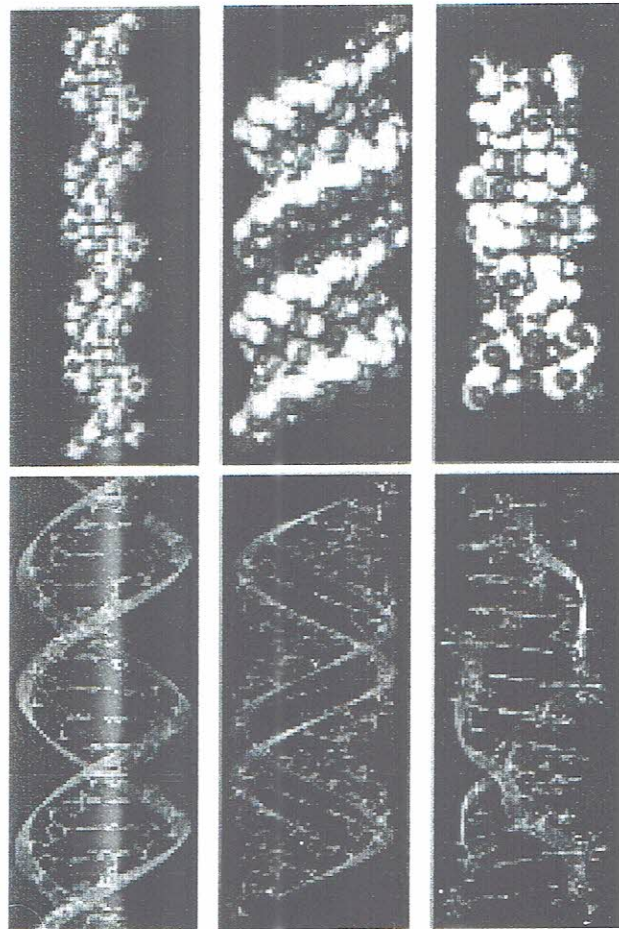
Tabel 2.2. Tipe-tipe Bentuk DNA Inti

Karakteristik	B-DNA	A-DNA	Z-DNA
Tipe heliks (putaran)	Putaran ke arah kanan	Putaran ke arah kanan	Putaran ke arah kiri
Diameter heliks (nm)	2.37	2.55	1.84
Jarak antara 2 pasangan basa berurutan (nm)	0.34	0.29	0.37
Jarak per satu untaian (pitch) (nm)	3.4	3.2	4.5
Jumlah basa setiap untai	10	11	12
Topologi lekukan mayor	lebar, dalam	sempit, dalam	Flat
Topologi lekukan minor	sempit, dangkal	luas, dangkal	sempit, dalam

Setiap gen berfungsi mengontrol atau menentukan satu macam sifat, misalnya gen jenis rambut, gen warna mata, gen warna kulit, dan sebagainya. Gen ini terdapat berderet di dalam kromosom pada tempat-tempat yang disebut lokus. Setiap gen



disusun oleh substansi genetik yang dikenal sebagai asam nukleat (asam inti), yaitu *deoxyribonucleic acid* (DNA) dan *rybonucleic acid* (RNA) (Supeni, T., 1996).



Gambar 2.4 Tipe-tipe DNA inti: DNA tipe B (kiri), DNA tipe A (tengah) dan tipe Z (kanan).

## 2.2. METODE ISOLASI DNA

Isolasi DNA dilakukan untuk memisahkan DNA dari bahan lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat. Proses isolasi DNA terdiri atas tiga tahapan penting yaitu penghancuran (lisis), ekstraksi atau pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA. Keberhasilan isolasi DNA ditentukan oleh ada

tidaknya kontaminan seperti protein dan RNA. Adanya kontaminan ditunjukkan oleh adanya *smear* pada uji kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarose dan nilai kemurnian DNA tidak berada dalam rentang 1,8- 2,2 melalui uji menggunakan spektrofotometri (Muladno, 2000).

Tahap awal isolasi DNA adalah proses perusakan atau penghancuran membran dan dinding sel yang bertujuan untuk mengeluarkan isi sel. Pada tahap ini penghancuran membrane dan dinding sel dilakukan cara enzimatik menggunakan proteinase K (Prot K). Prot K berfungsi melisiskan membran pada sel darah, mendegradasi protein globular maupun rantai polipeptida dalam komponen sel (Brown, 2010).

Pada tahapan ekstraksi DNA, seringkali digunakan *chelating agent* seperti ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) yang berperan menginaktivasi enzim DNase yang dapat mendenaturasi DNA yang diisolasi. EDTA menginaktivasi enzim nuklease dengan cara mengikat ion magnesium dan kalsium yang dibutuhkan sebagai kofaktor enzim DNase. DNA yang telah diekstraksi dari dalam sel selanjutnya perlu dipisahkan dari kontaminan komponen penyusun sel lainnya seperti polisakarida dan protein agar DNA yang didapatkan memiliki kemurnian yang tinggi. Fenol seringkali digunakan sebagai pendenaturasi protein, ekstraksi dengan menggunakan fenol menyebabkan protein kehilangan kelarutannya dan mengalami presipitasi yang selanjutnya dapat dipisahkan dari DNA melalui sentrifugasi. Setelah sentrifugasi akan terbentuk 2 fase yang terpisah yakni fase organik pada lapisan bawah dan fase aquoeus (air) pada lapisan atas sedangkan DNA dan RNA akan berada pada fase aquoeus setelah sentrifugasi sedangkan protein yang terdenaturasi akan berada pada



interfase dan lipid akan berada pada fase organik. Selain fenol, dapat pula digunakan campuran fenol dan kloroform atau campuran fenol, kloroform, dan isoamil alkohol untuk mendenaturasi protein. Ekstrak DNA yang didapat seringkali juga terkontaminasi oleh RNA sehingga RNA dapat dipisahkan dari DNA ekstrak dengan cara pemberian RNase.

Selanjutnya DNA yang telah diekstraksi, dipresipitasi menggunakan etanol atau isopropanol. Kedua senyawa tersebut akan mempresipitasi DNA pada fase aquoeus sehingga DNA menggumpal membentuk struktur fiber dan terbentuk pellet setelah dilakukan sentrifugasi. Presipitasi juga berfungsi untuk menghilangkan residu-residu kloroform yang berasal dari tahapan ekstraksi. Prinsip-prinsip presipitasi antara lain pertama, menurunkan kelarutan asam nukleat dalam air. Hal ini dikarenakan molekul air yang polar mengelilingi molekul DNA di larutan aquoeus. Muatan dipole positif dari air berinteraksi dengan muatan negatif pada gugus fosfodiester DNA. Interaksi ini meningkatkan kelarutan DNA dalam air. Isopropanol dapat bercampur dengan air, namun kurang polar dibandingkan air. Molekul isopropanol tidak dapat berinteraksi dengan gugus polar dari asam nukleat sehingga isopropanol adalah pelarut yang lemah bagi asam nukleat; kedua, penambahan isopropanol akan menghilangkan molekul air dalam larutan DNA sehingga DNA akan terpresipitasi; ketiga, penggunaan isopropanol dingin akan menurunkan aktivitas molekul air sehingga memudahkan presipitasi DNA.

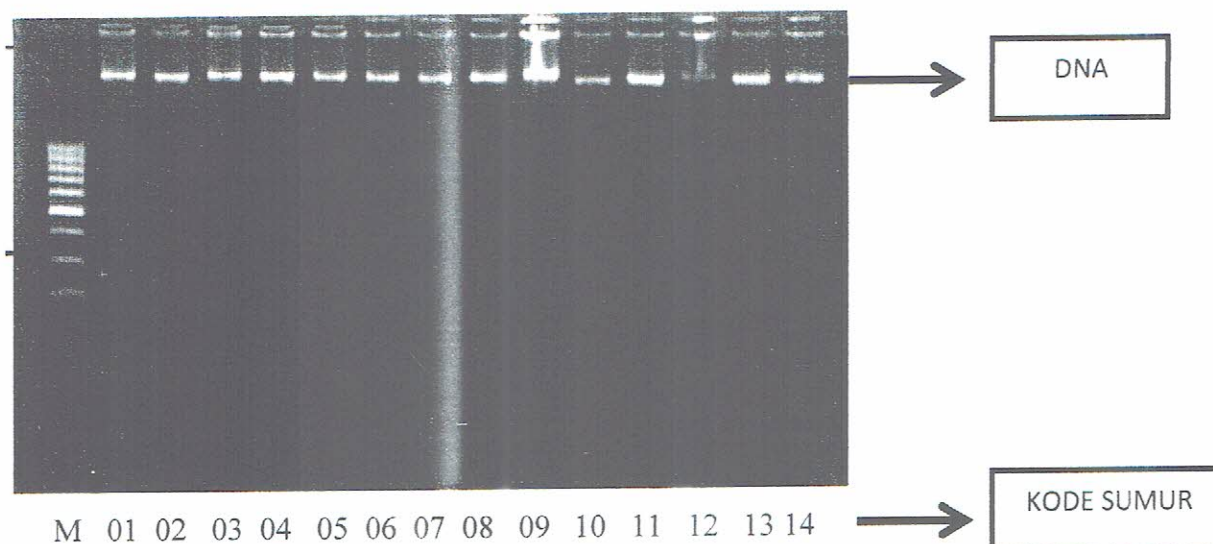
### 2.3. UJI KUALITATIF DNA

Keberhasilan isolasi DNA diuji secara kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarose 1% dalam larutan TAE 1X. Hasil uji kualitatif DNA disajikan pada Gambar 4.9 dan 4.10. Metode standar yang dapat digunakan untuk identifikasi, pemisahan dan purifikasi fragmen DNA adalah menggunakan elektroforesis gel agarose. (Fachtiyah, dkk., 2011). Pewarnaan ethidium bromide (EtBr) digunakan untuk alat identifikasi dan mengukur semi kualitatif fragmen DNA yang terpisah dalam gel agarose. EtBr akan terikat diantara dua untai ganda DNA, sehingga pita DNA dalam gel agarose akan berpendar karena EtBr mengandung zat fluoresen. Ikatan DNA-EtBr akan terekspos pada sinar UV dengan panjang gelombang 300 nm (Fachtiyah, dkk., 2011). Keberhasilan isolasi DNA dapat diketahui melalui munculnya pita DNA.

Migrasi DNA pada elektroforesis gel agarose dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu ukuran dan konformasi molekul DNA, konsentrasi agarose, arus listrik dan suhu. Total genom utuh dielektroforesis dengan agarose 0,8% sedangkan hasil amplifikasi DNA dielektroforesis dengan konsentrasi yang lebih tinggi 1,5 – 2% (Fachtiyah, dkk., 2011).

Hidayati, dkk. (2015a) telah melaporkan keberhasilan isolasi DNA yang bersumber darah total dari ayam arab, ayam kampung dan ayam ras petelur (Gambar 2.5), melalui uji kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarose 1.5% dalam buffer 1 X TAE. Keberhasilan isolasi DNA ditunjukkan oleh munculnya pita tunggal terang dan jelas yang terletak di atas Marker 100 bp serta tidak ditemukannya *smear*.



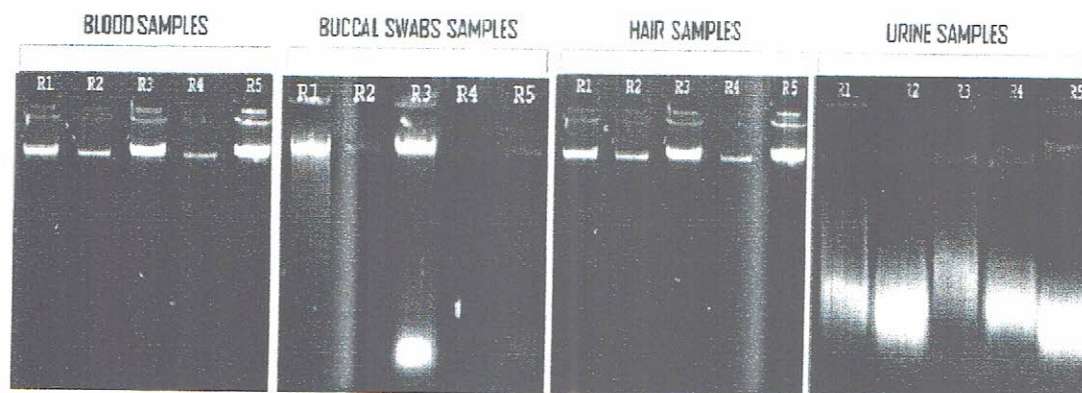


Gambar 2.5. Hasil Isolasi DNA

**Keterangan:**

- |                    |                    |
|--------------------|--------------------|
| M                  | = Marker 100 bp    |
| 01, 02, 03, 04, 05 | = DNA Ayam Arab    |
| 06, 07, 08, 09, 10 | = DNA Ayam Kampung |
| 11, 12, 13, 14, 15 | = DNA Ayam Petelur |

Selain pada ternak ayam kampung, ayam arab dan ayam ras petelur, juga telah dilaporkan keberhasilan isolasi DNA bersumber dari darah total dari kerbau kampar (Hidayati, dkk., 2011), sapi kuantan, sapi pesisir dan kerbau kampar (Hidayati, dkk., 2015b) menggunakan metode Sambrook *et al* (1989) yang telah dimodifikasi. Hasil uji kualitatif dari beberapa sumber materi DNA (Gambar 2.6) pada manusia juga telah dilaporkan Ghatak, *et al.* (2013)



Gambar 2.5. Hasil Uji Kualitatif dari Beberapa Sumber Materi DNA pada Manusia (Sumber: Ghatak, *et al.* (2013).

## 2.4. UJI KUANTITATIF DNA

Prinsip dari kuantifikasi DNA menggunakan alat spektrofotometer adalah iradiasi sinar ultraviolet dapat diserap oleh nukleotida dan protein dalam larutan karena adanya basa purin dan pirimidin. Penyerapan iradiasi sinar UV oleh DNA secara maksimal dicapai pada panjang gelombang 260 nm sedangkan penyerapan maksimal protein pada panjang gelombang 280 nm. Pada panjang gelombang 260 nm kepadatan optik (optical density (OD)) sama dengan satu, maka konsentrasi molekul DNA heliks ganda setara dengan 50  $\mu\text{g/mL}$  atau 40  $\mu\text{g/mL}$  DNA single heliks atau setara dengan 20  $\mu\text{g/mL}$  oligonukleotida untai tunggal. Nilai OD juga dapat digunakan untuk mengetahui tingkat kemurnian DNA hasil isolasi melalui nilai rasio antara nilai  $\text{OD}_{260}$  dan  $\text{OD}_{280}$ . Hasil isolasi DNA berhasil jika nilai rasio OD berkisar antara 1.8 – 2.0.

Ghatak, *et al.* (2013) menyatakan bahwa tingkat kemurnian DNA hasil isolasi darah (1.76 -1.86), rambut (1.72-1.97) lebih baik dibandingkan urine (1.42 -1.58) dan air ludah (*buccal swab*) berkisar antara 1.54 – 1.67. Hilhorst *et al.* (2013), melaporkan



tingkat kemurnian DNA hasil isolasi urine manusia adalah 1.81. Hidayati *et al.* (2016) juga melaporkan bahwa kemurnian hasil isolasi DNA dari darah pada sapi kuantan berkisar antara 1.64 -1.81 sedangkan pada sapi pesisir berkisar antara 1.71-1.80.

### III. MATERI DAN METODE

#### 3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan dari Bulan Oktober sampai dengan Desember 2016. Pengambilan sampel darah, urin dan feces sapi Bali di BIBD Provinsi Riau di Tenayan Raya Kota Pekanbaru. Sampel darah, urin dan feces kambing Peranakan Ettawa diambil pada Peternakan Alam Raya Kulim Kota Pekanbaru dan Sampel darah, feces dan urin kerbau milik Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN Suska Riau. Isolasi DNA dan uji kualitatif dilakukan di Laboratorium Pemuliaan dan Genetika Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN Suska Riau. Uji kuantitatif DNA akan dilaksanakan di Laboratorium Biologi IPB, Bogor.

#### 3.2. Materi dan Alat

Materi penelitian ini berupa sampel darah sebanyak 3 ml, urine sebanyak 50-100 ml dan feces sebanyak 100 gr dari sapi bali, kambing Peranakan Ettawa dan kerbau lumpur masing-masing ternak diwakilkan oleh 5 ekor. Bahan-bahan yang digunakan untuk pengambilan sampel darah yaitu tabung vacuntainer dengan EDTA 3 ml, spuit 5 cc, kapas beralkohol, ethanol absolut 96%, *cool box*.

Bahan-bahan yang digunakan untuk isolasi DNA terdiri atas DW (*dilution water*), tabung eppendorf 1,5 ml, ethanol absolut (96%), 1 X PBS (137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 2 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 7.4), pipet tips, disposable gloves, masker dan TE buffer (10mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA). GeneJET Genomic DNA Purification DNA Kit #K0721 terdiri atas Proteinase K solution, RNase A



solution, Digestion Solution, Lysis Solution, Wash Buffer I, Wash Buffer II, Elution Buffer (10 mM Tris-Cl, pH 9.0, 0.5 mM EDTA), columns collection tube dan collection tube. Alat-alat yang digunakan untuk isolasi DNA tabung eppendorf 1.5 mL, pipet tip, mikropipet 100- 1000  $\mu$ L, mikropipet 10 – 200  $\mu$ L, vortex, sentrifuge rak tabung eppendorf 1.5 mL, water bath dan waterbath.

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji kualitatif DNA hasil isolasi adalah gel agarose 1,5% (0,525 gram agarose + 35 ml dalam 1 x TAE, ethidium bromide, loading dye dan marker (100 bp) dan DW. Alat-alat yang digunakan adalah timbangan digital, gelas ukur, gelas piala 250 ml, cetakan gel, magnetic stirer dan hot plate, chamber, tangki elektroforesis dan UV GelDOC Bahan dan alat yang digunakan untuk uji kuantitatif DNA yaitu tabung eppendorf, rak tabung, Water Nuclease, DNA hasil isolasi dan alat spektrofotometri.

### **3.3. Prosedur Penelitian Tahap I**

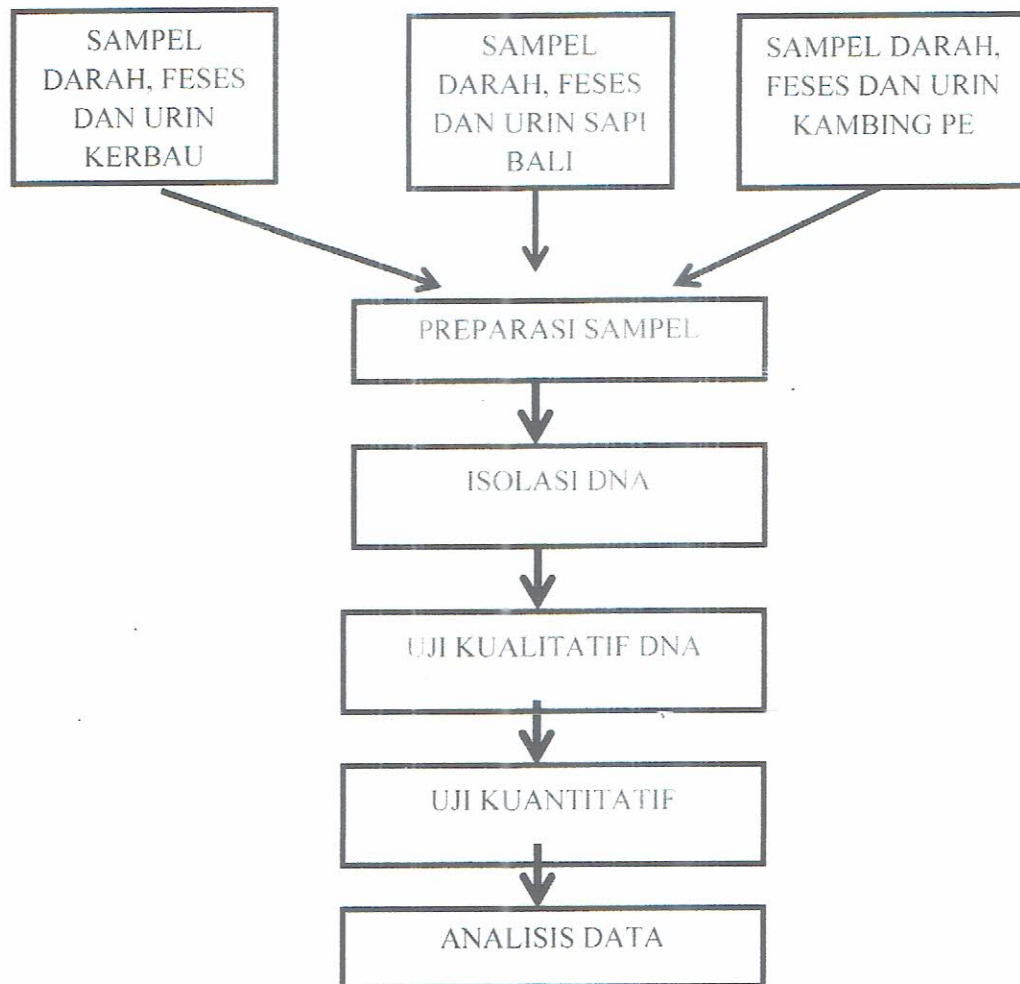
Tahapan penelitian dijelaskan pada skema penelitian pada Gambar 3.1.

#### **3.3.1 Pengambilan Sampel dan Preparasi Sampel**

Pengambilan sampel darah sebanyak 3 ml, melalui vena jugularis menggunakan jarum venoject atau spuit 5 ml. Selanjutnya darah disimpan dalam tabung vacuntainer dengan EDTA. Selanjutnya darah dimasukkan ke dalam *cool box* dan disimpan pada suhu 5°C.

Pengambilan sampel feces dilakukan sesaat setelah ternak melakukan defekasi. Feces yang diambil adalah feces pada bagian atas, dimasukan kedalam tabung koleksi dan selanjutnya disimpan pada suhu refrigerator 5°C. Pengambilan sampel urine

dilakukan dengan menampung urine yang telah dikeluarkan oleh ternak menggunakan gelas ukur steril. Selanjutnya urine dibawa ke laboratorium dan disimpan pada suhu 5°C.



Gambar 3.1. Skema Tahapan Penelitian

Preparasi sampel disesuaikan dengan masing-masing sumber materi genetik;

a. Preparasi Darah Menurut Thermo Scientific GeneJET Mini Kit

- 500 µl darah segar dimasukkan pada tabung eppendorf, ditambahkan 1 mL water nuclease selanjutnya divortex



- Sampel diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit
- Selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 5 menit diulang sebanyak 2 kali.
- Selanjutnya supernatant dibuang, dan pellet ditambahkan 200  $\mu$ L 1 X PBS (*Phospat Buffer Saline*).

b. Preparasi Urine Menurut Thermo Scientific GeneJET Mini Kit

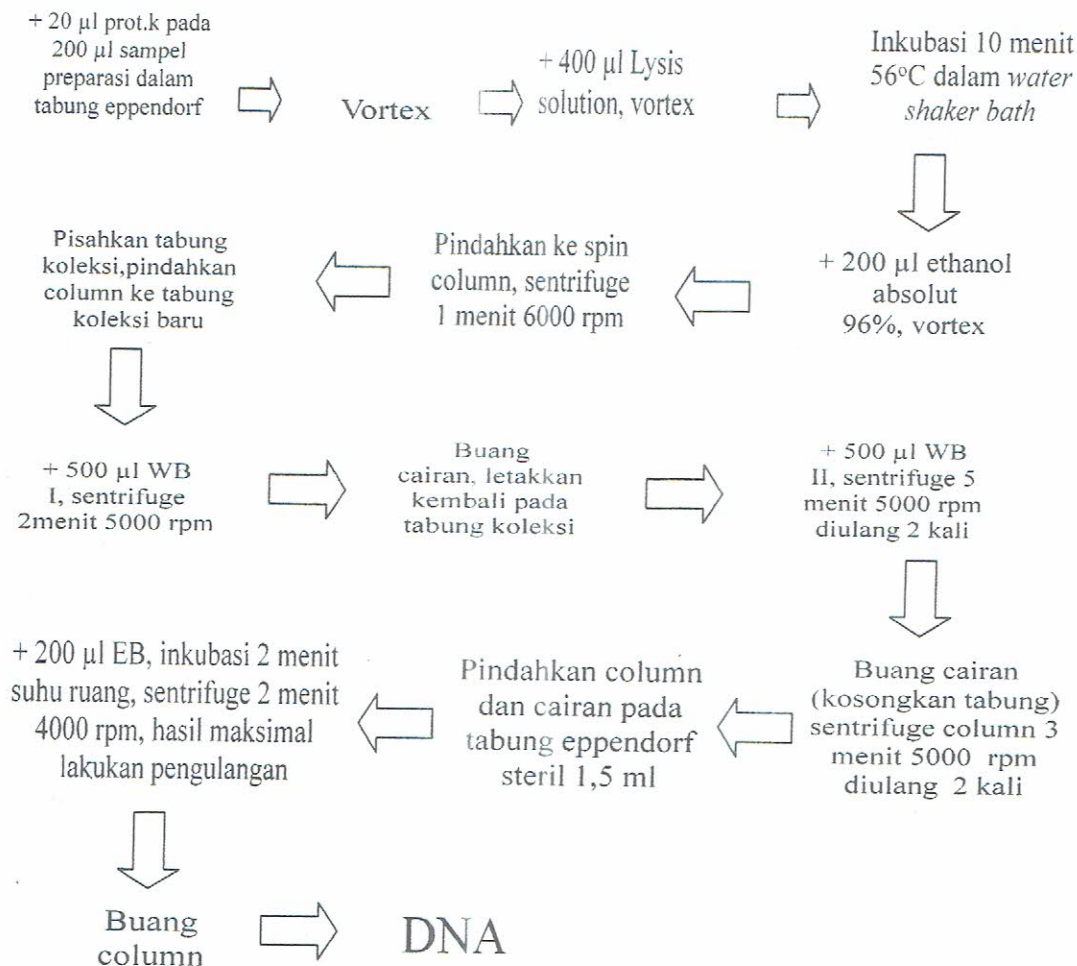
- 4,5 ml urin dimasukan pada vacuntainer yang mengandung EDTA
- Selanjutnya disentrifuge selama 10 menit pada kecepatan 3000 rpm
- Supernatan dibuang, selajutnya pellet disuspensikan menggunakan 200  $\mu$ L 1 x PBS

c. Prepararasi Feces Menurut Adip *et al.* (2013)

- 200 mg feces ditambahkan dengan 9 mL aqua DM,
- Selanjutnya divortex sehingga tercampur sempurna.
- Sampel disentrifuge pada kecepatan 5000 rpm selama 5 menit diulang sebanyak 2 kali. Selanjutnya supernatan dibuang dan pellet ditambahkan dengan 200  $\mu$ L 1 X PBS.

## 2. Isolasi DNA

Isolasi DNA total dilakukan mengikuti metode yang direkomendasikan oleh GeneJET Genomic DNA Purification DNA Kit #K0721 yang telah dimodifikasi disajikan pada Gambar 3.2.

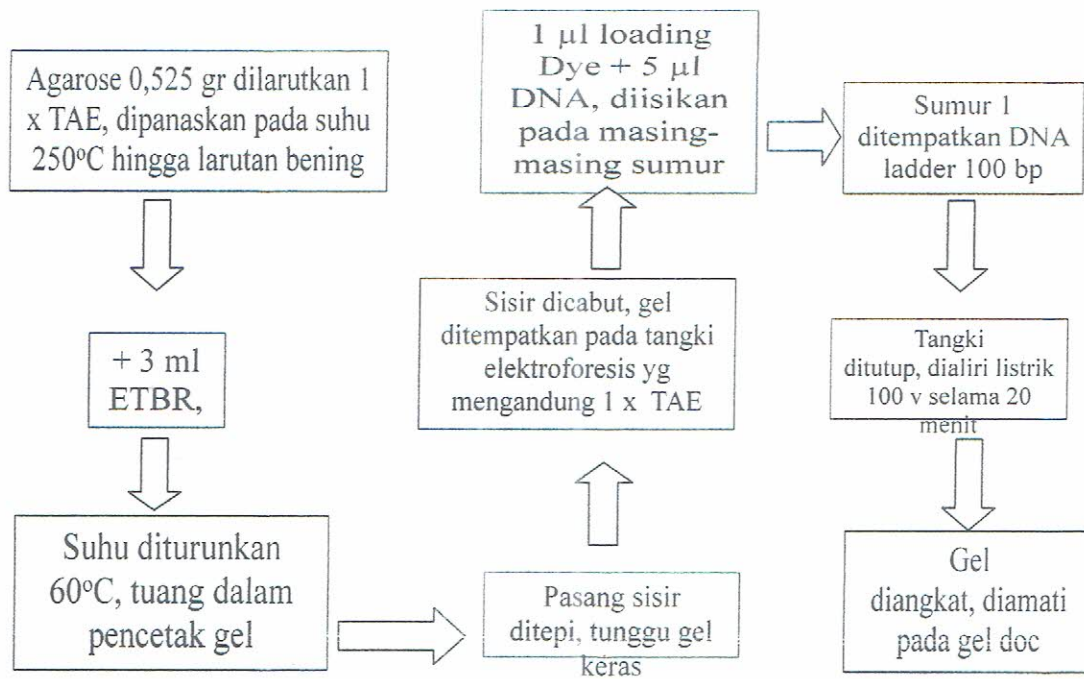


Gambar 3.2. Tahapan Isolasi DNA Menggunakan DNA Kit

### 3. Uji Kualitatif DNA Hasil Isolasi

Uji kualitatif DNA menggunakan gel agarose 1.5 % dalam 1X TAE, dirunning menggunakan elektroforesis pada tegangan 100 Volt selama 20 menit. Prosedur uji kualitatif disajikan pada Gambar 3.3.





Gambar 3.3. Prosedur Uji Kualitatif DNA (Elektroforesis Gel Agarose 1,5%).

#### 4. Uji Kuantitatif DNA Hasil Isolasi

Prinsip dari kuantifikasi DNA menggunakan alat spektrofotometer adalah iradiasi sinar ultraviolet dapat diserap oleh nukleotida dan protein dalam larutan karena adanya basa purin dan pirimidin. Penyerapan iradiasi sinar UV oleh DNA secara maksimal dicapai pada panjang gelombang 260 nm sedangkan penyerapan maksimal protein pada panjang gelombang 280 nm. Pada panjang gelombang 260 nm kepadatan optik (optical density (OD)) sama dengan satu, maka konsentrasi molekul DNA heliks ganda setara dengan 50 µg/mL atau 40 µg/mL DNA single heliks atau setara dengan 20 µg/mL oligonukleotida untai tunggal. Nilai OD juga dapat digunakan untuk mengetahui tingkat kemurnian DNA hasil isolasi melalui nilai rasio antara nilai OD<sub>260</sub> dan OD<sub>280</sub>. Hasil isolasi DNA berhasil jika nilai rasio OD

berkisar antara 1.8 – 2.0. Analisis dilakukan secara duplo untuk setiap sampel yang selanjutnya dihitung nilai rataannya.

## **5. Analisis Data**

Analisis data untuk uji kualitatif hasil isolasi DNA dilakukan secara deskriptif dengan penentuan pita yang terbentuk berada diatas marker, dan ada tidak adanya *smear* yang terbentuk. Isolasi DNA dinyatakan berhasil jika pita terbentuk. Analisis data dilakukan secara deskriptif dengan menghitung nilai rata-rata, standar deviasi dan persentase. Perbandingan hasil isolasi DNA berdasarkan sumber materi DNA yang berbeda dianalisis menggunakan uji t menurut Sudjana (2005).

DNA Hasil Isolasi Darah Vs DNA Hasil Isolasi Feces

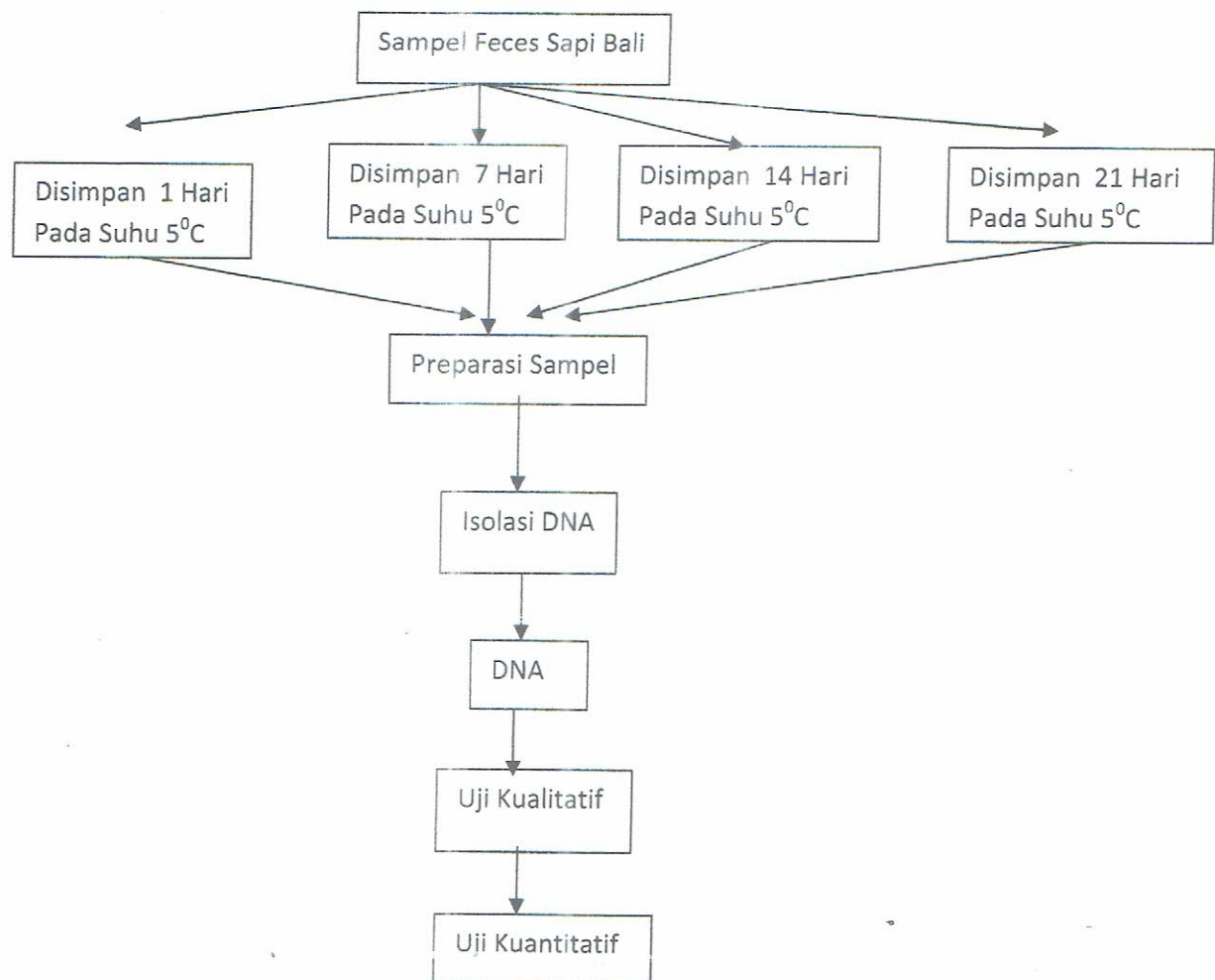
DNA Hasil Isolasi Darah Vs DNA Hasil Isolasi Urine

DNA Hasil Isolasi Feces Vs DNA Hasil Isolasi Urine

## **3.2 Prosedur Penelitian Tahap II**

Setelah diketahui metode preparasi isolasi DNA untuk feces dilanjutkan dengan penelitian tahap kedua. Prosedur penelitian tahap dua dapat diamati pada Gambar 3.4 berikut. Tahapan preparasi sampel, isolasi DNA, uji kualitatif dan uji kuantitatif mengikuti prosedur pada penelitian tahap 1.





Gambar 3.3. Skema Penelitian Tahap II.

### 3.2.1 Analisis Data

Analisis data untuk uji kualitatif hasil isolasi DNA dilakukan secara deskriptif dengan penentuan pita yang terbentuk berada diatas marker, dan ada tidak adanya smear yang terbentuk. Isolasi DNA dinyatakan berhasil jika pita erbentuAnalisis data dilakukan secara deskriptif dengan menghitung nilai rataan, standar deviasi dan persentase. Perbandingan hasil isolasi DNA berdasarkan sumber materi DNA yang

berbeda dianalisis menggunakan uji t menurut Sudjana (2005). Uji t digunakan untuk membandingkan antara perlakuan;

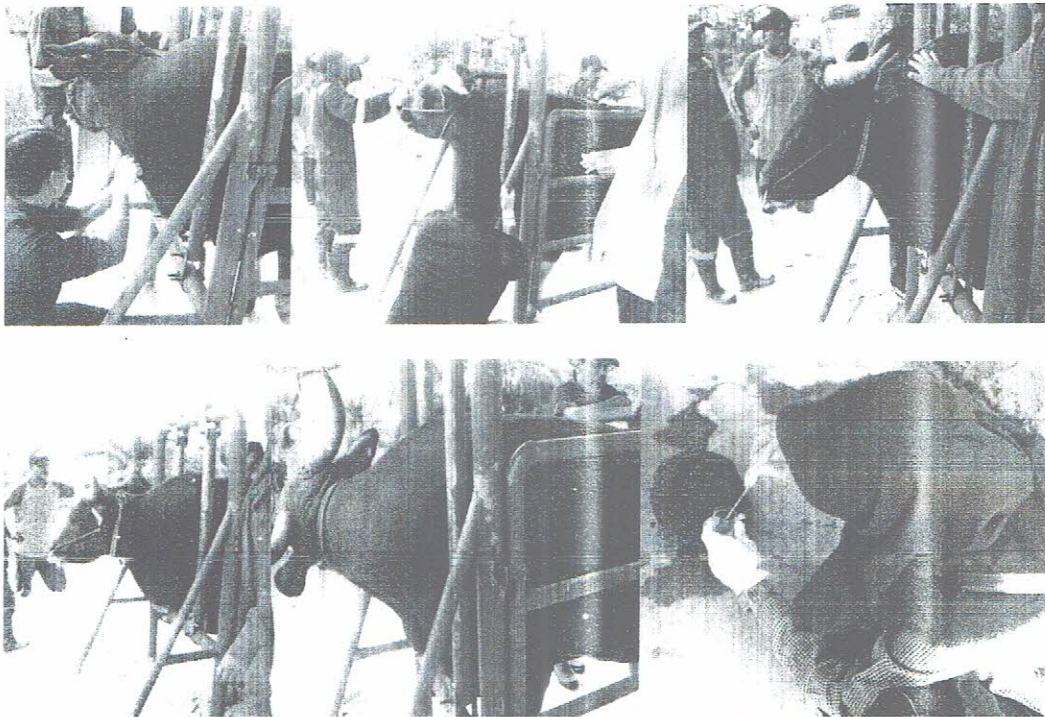
- SB1 Vs SB7
- SB1 Vs SB14
- SB1 Vs SB21
- SB7 Vs SB14
- SB7 Vs SB21
- SB14 Vs SB21



#### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### 4.1. Pengambilan Sampel Darah, Urine dan Feces Sapi Bali

Pengambilan sampel darah, urine dan feces sapi bali dilakukan di Balai Inseminasi Buatan Daerah Provinsi Riau Tenayan Kota Pekanbaru. Lima ekor *bull* sapi bali berhasil diambil darah, feces dan urine (Gambar 4.1). Data morfometrik ke lima *bull* disajikan pada Tabel 4.1.



Gambar 4.1. Pengambilan sampel darah dan feces sapi bali di BIBD Tenayan Kota Pekanbaru

Sapi bali merupakan hasil domestikasi dari Banteng (*Bos Sondaicus*) selama beratus-ratus tahun yang lalu (Bandini, 1999; Guntoro, 2002). Proses domestikasi yang cukup lama mengakibatkan ukuran sapi bali lebih kecil dibandingkan banteng (Abidin, 2002). Sama halnya seperti banteng, sapi bali memiliki karakteristik lebih agresif dibandingkan breed sapi lainnya, apalagi sapi bali jantan. Banteng liar masih dapat ditemukan di hutan Ujung Kulon (Jawa Barat), Ujung Wetan (Jawa Timur) dan

Taman Nasional Bali Barat (Bandini, 1999; Guntoro, 2002). Sifat agresif yang dimiliki oleh sapi bali apalagi sapi bali yang dipelihara secara ekstensif menyulitkan peneliti atau dokter hewan dalam melakukan *handling* pada saat pengambilan sampel darah (Bandini, 1999; Guntoro, 2002).

Tabel 4. 1. Morfometrik Sapi Bali Jantan di BIBD Tenayan Raya

No	Nomor Telinga	Nama	Umur (tahun)	BB (kg)	LD (cm)	PB (cm)	TP (cm)	LS (cm)
1	0200	Panji	6	591	198	161	138	26
2	0176	Gaharu	14	553	196	151	134	30
3	0793	Badak	6	598	205	154	134	31
4	0112	Melebung	6	540	192	151	133	32
5	0103	Bikson	3	561	200	150	135	28
Nilai Rataan				568.6	198.2	153.4	134.8	29.4
Standar Deviasi				24.93	4.82	4.51	1.92	2.41

Keterangan : BB (Bobot Badan), LD (Lingkar Dada), PB (Panjang Badan), TG (Tinggi Gumba) dan LS (Lingkar Scrotum)

Morfometrik sapi bali yang ditemukan di BIBD Tenayan Raya, lebih rendah dibandingkan morfometrik banteng (Tabel 4.2), pada kebun binatang Surabaya untuk lingkar dada dan panjang badan, tapi tinggi pundak sapi bali di BIBD Tenayan lebih tinggi dibandingkan tinggi pundak banteng di dua lokasi yang berbeda. Panjang badan sapi bali lebih kecil dibandingkan panjang badan banteng yang terdapat di dua lokasi berbeda. Proses domestikasi dari hewan liar menjadi hewan domestik (ternak) dapat mengakibatkan perubahan ukuran-ukuran tubuh tertentu dari ternak sesuai dengan tahapan evolusi yang terjadi.

Tabel 4.2 Nilai Rataan Morfometrik Banteng (*Bos javanicus*)

Morfometrik	Banteng Jantan		
	Kebun Binatang Surabaya	Taman Safari II	BIBD Tenayan
LD (cm)	206 ± 43.93	186.62 ± 52.08	198.2 ± 4.82
PB (cm)	210.8 ± 33.31	187.75 ± 45.85	153.4 ± 4.51
TP (cm)	130.6 ± 11.24	132.87 ± 17.43	134.8 ± 1.92

Sumber: Takandjandji dan Sawitri (2015)



Morfometrik sapi bali yang dimiliki oleh BIBD Tenayan lebih baik dibandingkan morfometrik sapi bali yang ditemukan di beberapa lokasi berdasarkan laporan Hardjosoebroto (1994). Sapi bali yang dipelihara di BIBD Tenayan adalah pejantan-pejantan yang telah memiliki sertifikat pejantan, merupakan ternak-ternak terseleksi yang ditampung semennya untuk dibuat menjadi *straw* yang mana *straw* tersebut disebar ke beberapa daerah di Provinsi Riau untuk Inseminasi Buatan. Pemberian pakan yang baik sesuai kebutuhan untuk hidup pokok dan produksi dapat meningkatkan produktivitas ternak selain faktor mutu genetik yang baik. Ukuran tubuh yang lebih besar mengakibatkan ternak sulit dihandling pada saat pengambilan sampel darah selain sifat agresifitas yang cukup tinggi pada sapi bali.

Tabel 4.3. Nilai Rataan Morfometrik Sapi Bali

Morfometrik	Sapi Bali						BIB Tenayan
	Sulawesi Selatan	NTT	Papua	NTB	Bali	P3Bali	
LD (cm)	181.4	180.4	180.6	182	186	198.8	198.2
PB (cm)	125.6	134.8	132.1	133.6	142	146.2	153.4
TP (cm)	122.3	126.0	125.6	125.2	125	130.1	134.8

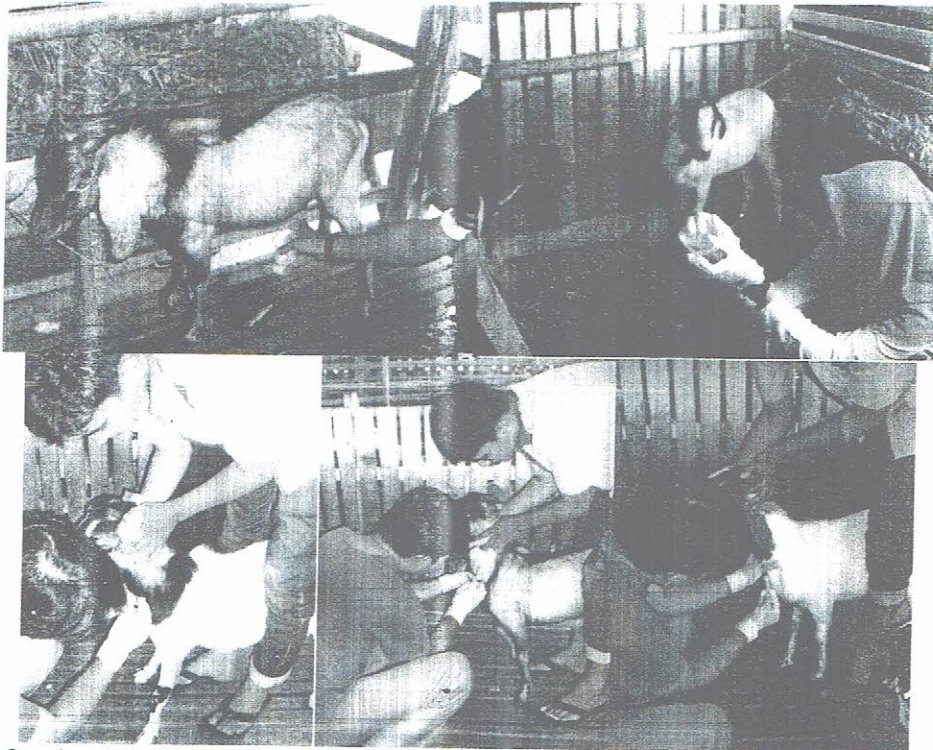
Sumber : Hardjosoebroto (1994)

#### 4.2. Pengambilan Sampel Darah, Urine dan Feces Kambing Peranakan Ettawa

Pengambilan sampel darah, urine dan feces kambing Peranakan Ettawa berhasil dilakukan di Peternakan Kambing Aiam Raya di Kulim Kota Pekanbaru (Gambar 4.2). Lima ekor kambing Peranakan Ettawa dijadikan sampel dalam penelitian ini.

Kambing PE merupakan kambing hasil persilangan antara kambing ettawa dan kambing kacang. Karakteristik kambing peranakan Ettawa adalah telinga panjang, menggantung dan terkulai, warna bulu kombinasi putih hitam atau putih

coklat, profil muka cembung, tanduk pejantan dan betina kecil melengkung ke belakang dan ekor pendek (SNI 7325:2008).

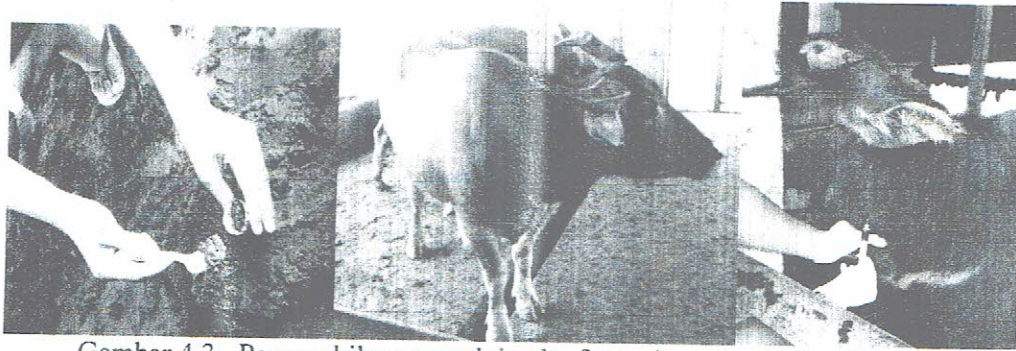


Gambar 4.2. Pengambilan sampel darah dan penampungan urine kambing PE

#### 4.3. Pengambilan Sampel Darah, Urine dan Feces Kerbau Lumpur

Pengambilan sampel darah, urine dan feces kerbau lumpur berhasil dilakukan pada 3 ekor kerbau (Gambar 4.3). Sama halnya dengan pengambilan darah pada sapi bali dan kambing dilakukan pada daerah vena jugularis bagian leher kerbau sebanyak 3 ml menggunakan spuit 5 ml. Pengambilan sampel feces dilakukan sesaat setelah kerbau melakukan defekasi dan diambil feces pada bagian atas.





Gambar 4.3. Pengambilan sampel darah, feces dan urine kerbau lumpur  
Morfometrik kerbau lumpur jantan dan betina di Kabupaten Kampar telah

dilaporkan oleh Hidayati, *et al.* (2010) dan disajikan pada Tabel 4.4. ukuran-ukuran tubuh ternak Kerbau Lumpur di Kabupaten Kampar lebih kecil dibandingkan hasil penelitian di beberapa tempat. Nilai koefisien keragaman morfometrik kerbau di Kabupaten Kampar menunjukkan angka  $<20\%$  yang menunjukkan bahwa ukuran morfometrik kerbau seragam.

Panjang badan kerbau jantan dan betina Kampar lebih rendah dibandingkan hasil penelitian di daerah lain (Hidayati & Maarif, 2010; Diyono 2009)) namun lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Zulfardi dan Kusumaningrum (2005). Rangkuman panjang badan kerbau di beberapa daerah di Indonesia dapat disimpulkan pada Tabel 4.5. Lingkar dada dan panjang badan mempunyai pengaruh paling besar pada bobot tubuh. Lingkar dada meningkat seiring dengan umur ternak. Korelasi positif antara lingkar dada dan tingkat pertumbuhan lepas sapih menandakan bahwa seleksi pada lingkar dada menjadi petunjuk kecepatan pertumbuhan ternak yang berakibat pula pada peningkatan tinggi pundak dan ukuran kerangka.



Tabel 4.4. Morfometrik Kerbau Lumpur di Kabupaten Kampar

Parameter	Jantan				Betina			
	Rata-rata	Standar Deviasi	KK	n	Rata-rata	Standar Deviasi	KK	n
Tinggi Pundak Tinggi	111.62	8.02	7.18	13	114.07	4.8	4.21	8
Punggung	110.08	2.72	2.47	13	114.93	4.25	3.7	8
Tinggi Pinggul	112	9.33	8.33	13	114.86	3.18	2.77	8
Panjang Badan	110.62	10.84	9.8	13	120	9.8	8.16	8
Lingkar Dada	159.69	15.81	9.9	13	171.5	7.17	4.18	8
Lebar Dada	34.85	6.08	17.46	13	34.86	3.58	10.27	8
Lebar Pinggul	39.46	5.87	14.88	13	39.29	5.06	12.87	8

Sumber: Hidayati, *et al.* (2010).

Tabel 4.5. Panjang Badan Kerbau di Beberapa Daerah di Indonesia

Panjang Kerbau Lumpur (cm)	Badan	Daerah Penelitian	Jenis Kelamin	Sumber
134.45 (> 5 thn)		Tenayan Raya Pekanbaru,	Jantan	Hidayati & Maarif (2010)
134.1 (>5 thn)		Tenayan Raya Pekanbaru,	Betina	Hidayati & Maarif (2010)
113.67 ( 4- 5 thn)		Pendeglag, Jawa Barat	Betina	Diyono (2009)
125.33 (> 5 thn)		Pandeglag, Jawa Barat	Jantan	Diyono (2009)
126.68 (> 5 thn)		Pandeglag, Jawa Barat	Betina	Diyono (2009)
119.5 ( 4- 5 thn)		Lebak, Jawa Barat	Jantan	Diyono (2009)
125.33 (4 – 5 thn)		Lebak, Jawa Barat	Betina	Diyono (2009)
126.93 (> 5 tahn)		Lebak, Jawa Barat	Betina	Diyono (2009)
101 ( dewasa)		Brebes, Jawa Timur	Jantan	Zulbardi dan Kusumaningrum (2005)
88.80 (dewasa)		Brebes, Jawa Timur	Betina	Zulbadri dan Kusumaningrum (2005)

Ukuran tubuh merupakan parameter sifat pertumbuhan yang dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan. Lingkungan yang optimum diperlukan oleh kerbau untuk berbagai proses metabolisme tubuh. Pengaruh lingkungan terkait dengan pertumbuhan kerbau dibedakan menjadi pengaruh lingkungan alam dan pengaruh sistem produksi dan manajemen pemeliharaan (Diyono, 2009). Suhu lingkungan yang zona nyaman untuk pertumbuhan kerbau berkisar antara 15 – 21°C dengan curah hujan sampai 500 sampai 2000 mm/tahun. Suhu lingkungan diatas 24°C dapat

mengakibatkan cekaman panas bagi kerbau (Fahimuddin, 1975 dalam Diyono, 2009). Ternak-ternak yang mengalami perubahan iklim yang sangat ekstrim, biasanya tubuh akan melakukan respon untuk melakukan adaptasi dengan lingkungan tersebut. Tiga fase yang akan dilalui ternak dalam menghadapi stress yaitu 1) alarm (jika ternak tidak dapat menahan stress), 2) resistensi yaitu jika tubuh ternak mampu berfungsi normal kembali dan 3) *exhaustion* (kelelahan) yaitu jika resistensi hilang (Noor, 2002). Dijelaskan lebih lanjut bahwa reaksi tubuh ternak terhadap stress panas bisa berbentuk histologi, morfologi, biokimia, perubahan fungsi dan variasi faktor biotik dan fisik. Tubuh ternak memiliki mekanisme stabilitas atau *homeostatis* dan kerja di dalam tubuhnya diatur oleh gen-gen dan gen-gen kelenturan. Suhu lingkungan di Kabupaten Kampar rata-rata diatas 30°C.

Williams (1982), menyatakan bahwa perubahan bentuk atau ukuran seekor ternak dipengaruhi oleh genetik, pakan, jumlah kromosom, hormon, lingkungan dan manajemen pemeliharaan. Pemberian pakan yang tidak sesuai dengan kebutuhan tubuh ternak akan dapat mengganggu produktivitas seperti panjangnya jarak beranak, rendahnya angka kelahiran, pertumbuhan dan perkembangan tubuh ternak tidak sesuai dengan umurnya (Hidayati, 2009).

#### **4.4. Prosedur Preparasi Sampel Darah, Feces dan Urine**

Prosedur preparasi sampel darah dan feces telah berhasil dilakukan kecuali preparasi sampel yang berasal dari urine. Preparasi sampel darah yaitu dengan cara 500 µL sampel darah dilarutkan dalam 1000 µL selanjutnya divorteks dan didiamkan pada suhu ruang selama 5 menit. Selanjutnya sampel darah di sentrifuge selama 5

menit dengan kecepatan 5000 rpm dilakukan sebanyak 2 kali. Selanjutnya supernatant dibuang, dan pellet ditambahkan 200  $\mu$ L 1 X PBS (*Phospat Buffer Saline*).

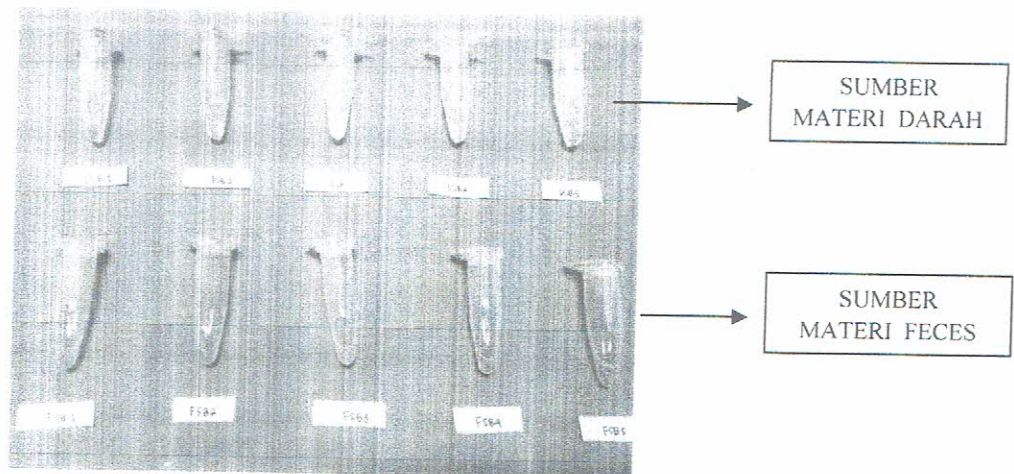
Preparasi sampel feces dilakukan dengan cara 200 mg feces ditambahkan dengan 9 mL aqua DM divortex sehingga tercampur sempurna. Selanjutnya disentrifuge pada kecepatan 5000 rpm selama 5 menit diulang sebanyak 2 kali. Selanjutnya supernatant dibuang dan pellet ditambahkan dengan 200  $\mu$ L 1 X PBS. Selanjutnya dilakukan tahapan isolasi.

#### **4.5. Hasil Isolasi DNA Sapi Bali, Kambing Peranakan Ettawa dan Kerbau Lumpur**

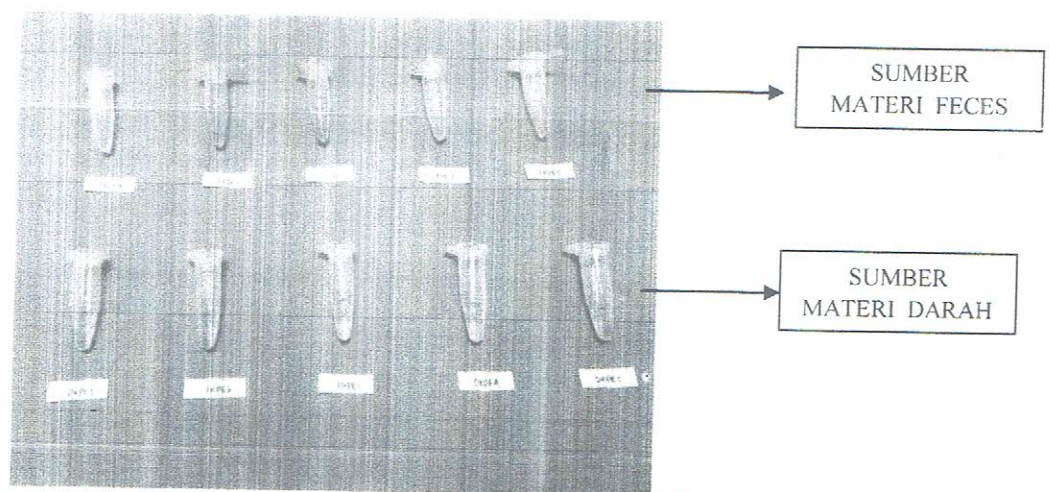
Isolasi DNA mengikuti prosedur GeneJet Whole Blood Genomic DNA Purification yang telah dimodifikasi. Sampel darah dan feces dari sapi bali (Gambar 4.4.), kambing PE (Gambar 4.5.) dan Kerbau (Gambar 4.6) berhasil diisolasi begitu juga dengan sampel yang berasal dari feces, kecuali urine. Metode preparasi sampel urine yang diajukan oleh GeneJet Whole Blood Genomic DNA Purification belum mampu mengisolasi DNA.

Darah sebagai sumber materi DNA telah umum digunakan dan menunjukkan tingkat keberhasilan yang tinggi dalam proses amplifikasi *Polymerase Chain Reaction*. Penggunaan feces sebagai sumber materi DNA telah dilaporkan oleh Frantzen, *et al.* (1998) dan Murphy *et al.* (2002).

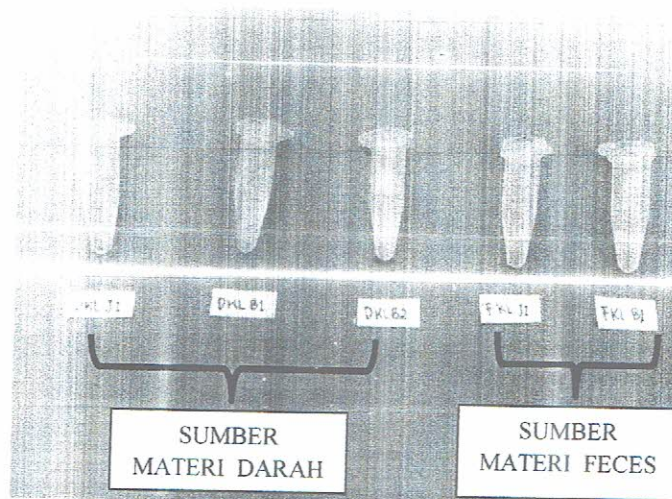




Gambar 4.4. Hasil Isolasi DNA dari Darah dan Feces Sapi Bali



Gambar 4.5. Hasil Isolasi DNA dari Darah dan Feces Sapi Bali



Gambar 4.6. Hasil Isolasi DNA dari Darah dan Feces Kerbau

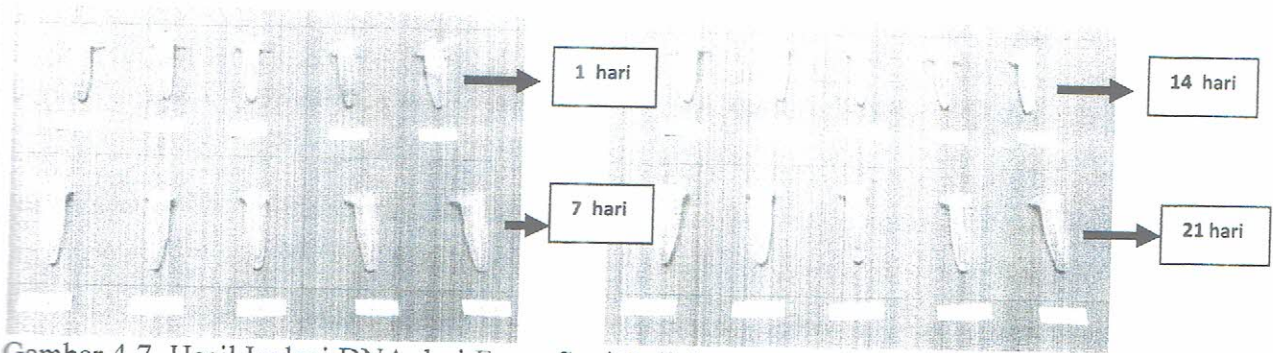
Urine merupakan cairan sisa metabolisme yang diekskresikan oleh ginjal yang dikeluarkan oleh tubuh melalui proses urinasi (Yudianto dan Sisпитasari, 2016). Urine terdiri atas air dengan bahan terlarut berupa sisa metabolisme seperti urea, garam pelarut dan materi organik. Urine juga mengandung sel darah merah, sel darah putih dan sel epitel. Sel epitel yang ditemukan pada urine merupakan sel yang menyusun permukaan dinding bagian dalam ginjal dan saluran kencing yang terdiri atas 3 jenis sel epitel yaitu skuamosa, transisi dan sel-sel tubulus ginjal (Yudianto dan Sisпитasari, 2016). Dijelaskan lebih lanjut sel-sel epitel hampir selalu ditemukan dalam urine apalagi yang berasal dari kandung kemih (*vesica urinary*), urethra dan vagina.

Isolasi DNA dilakukan untuk memisahkan DNA dari bahan lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat. Proses isolasi DNA terdiri atas tiga tahapan penting yaitu penghancuran (lisis), ekstraksi atau pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA. Keberhasilan isolasi DNA ditentukan oleh ada tidaknya kontaminan seperti protein dan RNA. Adanya kontaminan ditunjukkan oleh adanya *smear* pada uji kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarose dan nilai kemurnian DNA tidak berada dalam rentang 1,8- 2,2 melalui uji menggunakan spektrofotometri.

#### **4.6. Hasil Isolasi DNA Sapi Bali dari Feces dengan Lama Waktu Penyimpanan Berbeda**

Feces yang disimpan sampai hari ke 21, masih tetap dapat diisolasi. Hasil isolasi DNA disajikan pada Gambar 4.7.





Gambar 4.7. Hasil Isolasi DNA dari Feces Sapi Bali dengan Waktu Lama Penyimpanan Yang Berbeda

#### 4.7. Hasil Uji Kualitatif DNA Hasil Isolasi dari Darah dan Feces Sapi Bali, Kambing Peranakan Ettawa serta Kerbau Lumpur

Keberhasilan isolasi DNA diuji secara kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarose 1.5 % dalam larutan 1 x TAE. Hasil uji kualitatif DNA disajikan pada Gambar 5 dan Gambar 6 Metode standar yang dapat digunakan untuk identifikasi, pemisahan dan purifikasi fragmen DNA adalah menggunakan elektroforesis gel agarose. (Fachtiyah, dkk., 2011). DNA dapat bermigrasi pada gel agarose ataupun gel polyacrylamide dalam bentuk padat yang diletakkan pada larutan penyangga yang dialiri arus listrik pada tangki elektroforesis. DNA yang bermuatan negatif akan bergerak ke arah positif.

Pewarnaan etidium bromide (EtBr) digunakan untuk alat identifikasi dan mengukur semi kualitatif fragmen DNA yang terpisah dalam gel agarose. EtBr akan terikat diantara dua untai ganda DNA, sehingga pita DNA dalam gel agarose akan berpendar karena EtBr mengandung zat fluoresen. Ikatan DNA-EtBr akan terekspos pada sinar UV dengan panjang gelombang 300 nm (Fachtiyah, dkk., 2011). Keberhasilan isolasi DNA dapat diketahui melalui munculnya pita DNA.

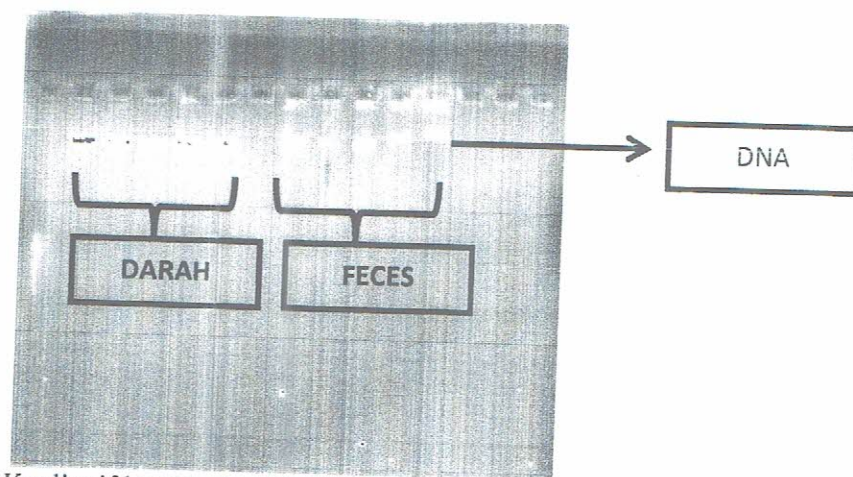


Migrasi DNA pada elektroforesis gel agarose dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu ukuran dan konformasi molekul DNA, konsentrasi agarose, arus listrik dan suhu. Total genom utuh dielektroforesis dengan agarose 0,8% sedangkan hasil amplifikasi DNA dielektroforesis dengan konsentrasi yang lebih tinggi 1,5 – 2% (Fachtiyah, dkk., 2011). Penentuan konsentrasi agarose dalam pembuatan gel harus memperhatikan ukuran molekul DNA yang akan dianalisis. Pada penelitian ini konsentrasi gel agarose yang digunakan adalah 1,5% menggunakan buffer TAE 1X. Selain faktor konsentrasi agarose migrasi DNA pada saat elektroforesis ditentukan pula oleh ukuran molekul DNA dimana DNA berbentuk sirkuler akan lebih cepat bermigrasi dibandingkan linear dan fragmen DNA utuh akan lebih cepat bermigrasi dibandingkan genom utuh. Voltase dari alat elektroforesis juga mempengaruhi kecepatan migrasi DNA pada gel agarose karena DNA merupakan molekul bermuatan negative. Dalam penelitian ini voltase yang digunakan adalah 100 Volt. Selain voltase, suhu juga mempengaruhi kecepatan migrasi DNA pada saat elektroforesis, suhu tinggi mengakibatkan DNA akan terurai dan akan kembali menyatu pada suhu dingin. Pada penelitian ini suhu yang digunakan adalah suhu kamar.

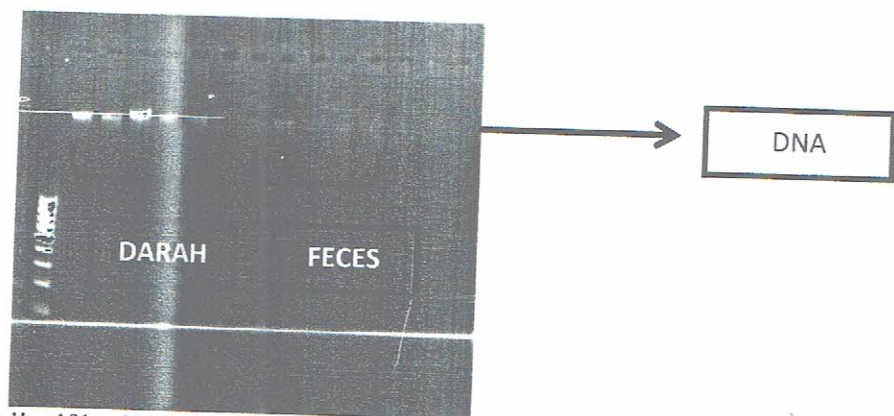
Keberhasilan isolasi DNA dengan sumber materi darah dan feces pada sapi bali disajikan pada Gambar 4.9, pada kambing PE disajikan pada Gambar 4.10 dan pada kerbau lumpur disajikan pada Gambar 4.11. Hal ini ditunjukkan dengan munculnya pita yang jelas dan tegas dan berada di atas marker. Pada sumur ke 2,3,4,5 dan 6 merupakan DNA hasil isolasi dari darah sedangkan pada sumur ke 8,9,10,11 dan 12 merupakan DNA hasil isolasi dari feces (Gambar 4.8 dan Gambar 4.9). Pada sampel

kerbau isolasi DNA baru berhasil dilakukan pada satu ekor ternak sumur 1 sedangkan untuk darah ketiga sampel berhasil diisolasi (Gambar 4.10).

Dilihat dari pemunculan pita pada sampel sapi bali menunjukkan bahwa konsentrasi DNA yang dihasilkan dengan sumber materi yang berbeda darah dan feces tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hal itu ditunjukkan oleh pemunculan pita yang tebal, terang dan tegas tanpa ditemukannya *smear*.

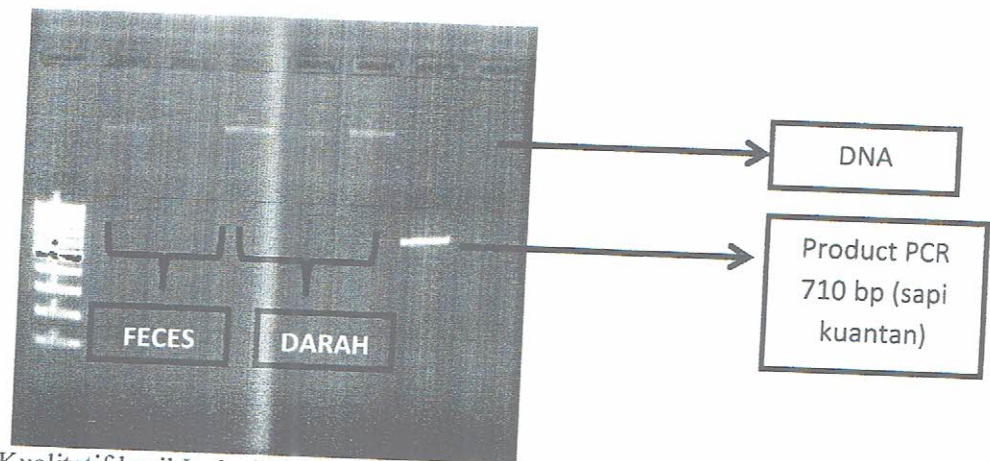


Gambar 4.8. Hasil Uji Kualitatif hasil Isolasi DNA dari Darah dan Feces Sapi Bali



Gambar 4.9. Hasil Uji Kualitatif hasil Isolasi DNA dari Darah dan Feces Kambing Peranakan Ettawa



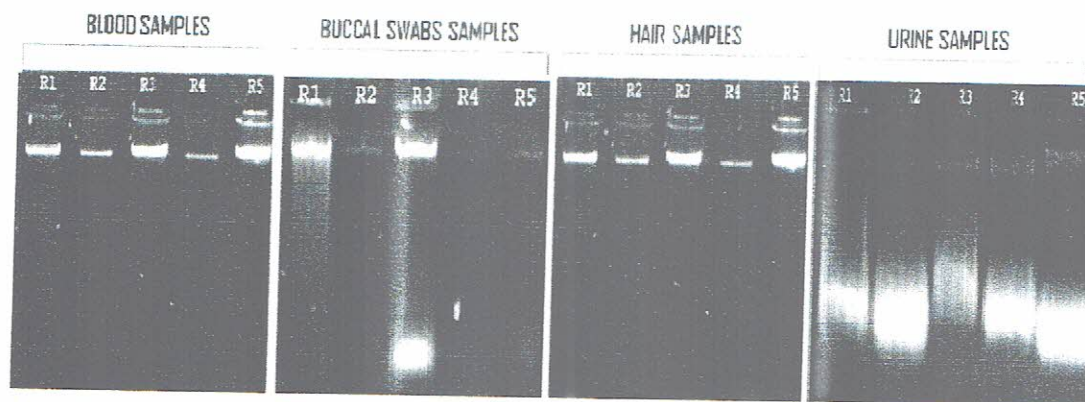


Gambar 4.10. Hasil Uji Kualitatif hasil Isolasi DNA dari Darah dan Feces Kerbau Lumpur

Secara kualitatif, konsentrasi DNA yang berasal dari darah, lebih tinggi dibandingkan dari DNA yang berasal dari feces pada kambing PE. Hal ini ditunjukkan dengan pita yang terang dan jelas pada sampel darah dibandingkan sampel feces. Berdasarkan pita DNA yang terbentuk pada kerbau lumpur juga menunjukkan hal yang relatif sama dimana hasil isolasi DNA kerbau menunjukkan pita yang terang dan jelas dibandingkan pita yang terbentuk dari DNA kerbau yang berasal dari feces. Untuk mengetahui secara pasti konsentrasi dan tingkat kemurnian hasil isolasi dilanjutkan dengan pengiriman sampel DNA ke Laboratorium Biologi IPB.

Hal ini sesuai dengan laporan Ghatak *et al.* (2013) bahwa darah merupakan sumber materi yang terbaik untuk isolasi DNA. Gambar pita hasil elektroforesis hasil isolasi DNA dengan sumber materi DNA yang berbeda (darah, air liur, rambut dan urine) pada manusia disajikan pada Gambar 4.11.

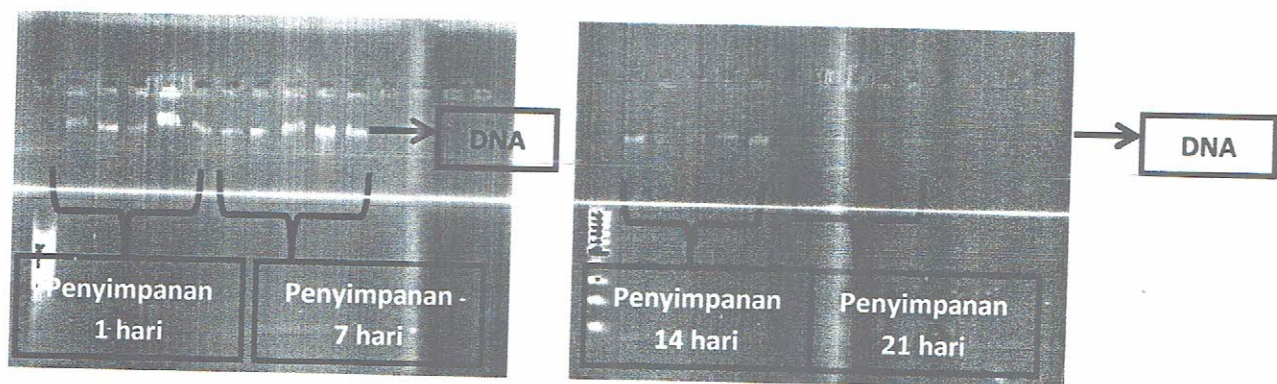




Gambar 4.11. Hasil Uji Kualitatif dari Beberapa Sumber Materi DNA pada Manusia (Sumber: Ghatak, *et al.* (2013).

#### 4.8. Hasil Uji Kualitatif DNA Hasil Isolasi dari Feces dengan Lama Waktu Penyimpanan Yang Berbeda

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penyimpanan sampel feces sapi bali pada suhu  $5^{\circ}\text{C}$  sampai 21 hari tidak mempengaruhi keberhasilan isolasi DNA. Hal ini disajikan pada Gambar 7. Feces yang disimpan pada suhu  $5^{\circ}\text{C}$  masih dapat diisolasi, walaupun secara kualitatif diketahui bahwa konsentrasi yang dihasilkan tidak sebaik penyimpanan sebelumnya. Sampai hari penyimpanan 14 hari menunjukkan pita terang, tebal dan jelas menunjukkan konsentrasi yang dihasilkan masih baik dan menurun pada penyimpan 21 hari (Gambar 4.12).

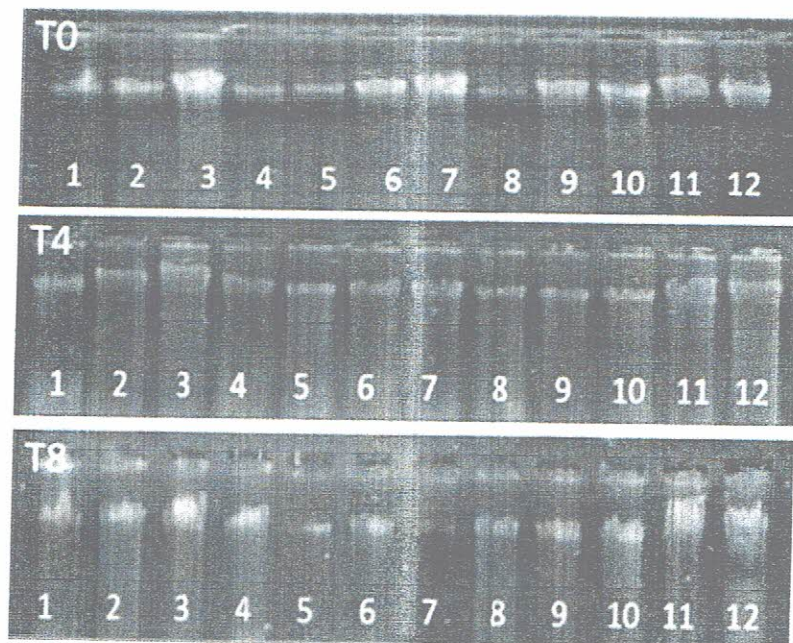


Gambar 4.12. Hasil Uji Kualitatif hasil Isolasi DNA dari Feces sapi bali dengan lama penyimpanan 1 hari, 7 hari, 14 hari dan 21 hari

Ghatak, *et al.* (2013) lama penyimpanan tidak mempengaruhi kualitas DNA yang dihasilkan pada *bucal swabs* yang disimpan pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 3 hari tidak berbeda nyata dengan tanpa penyimpanan. Begitu juga *bucal swabs* yang disimpan sampai satu minggu pada suhu -20<sup>0</sup>C dan 4<sup>0</sup> C juga menunjukkan pengaruh yang tidak nyata. Begitu juga untuk rambut yang disimpan pada ethanol masih dapat disolasi sampai penyimpanan selama 2 bulan dan darah yang disimpan pada tabung EDTA sampai 4 bulan pada suhu -20<sup>0</sup>C. Dijelaskan lebih lanjut bahwa DNA yang berasal dari urine, *swab bucal* dan rambut berhasil mengamplifikasi daerah D-loop dari DNA mitochondria manusia. Namun penggunaan darah tetap direkomendasikan karena lebih sedikit kemungkinan terjadinya kontaminasi.

Hal yang senada juga dinyatakan oleh Kuchler *et al.* (2012). Penyimpanan *bucal swabs* pada alcohol 70% dengan lama penyimpanan 4 hari dan 8 hari tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kuantitas DNA yang dihasilkan dan tingkat kemurnian DNA hasil isolasi. Hasil elektroforesis disajikan pada Gambar 4.13.

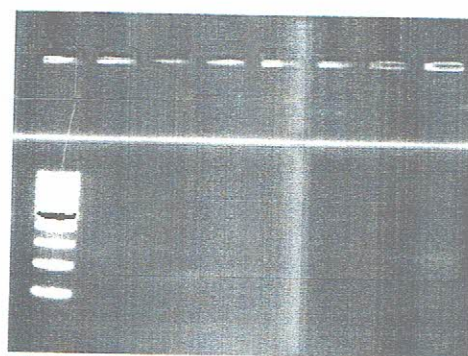




Gambar 4.13. Hasil Elektroforesis DNA berasal dari *Buccal swabs* pada penyimpanan 0 hari, 4 hari dan 8 hari (Kuchler, *et al.*, 2012)

#### 4.9. Hasil Uji Kualitatif DNA Hasil Isolasi dari Urine

Proses isolasi DNA menggunakan urine belum berhasil dilakukan. Hal ini ditunjukkan oleh Gambar 8, dimana tidak ditemukan pita pada gel (Gambar 4.14). Prosedur preparasi sampel yang disarankan oleh GeneJet Whole Blood Genomic DNA Purification belum mampu mengisolasi urine sapi dan kambing. Masih perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan metode preparasi sampel yang sesuai.



Gambar 4.14. Uji Kualitatif Hasil Isolasi DNA dari Urine Sapi Bali dan Urine Kambing PE



Hilhorst, *et al.* (2013) melaporkan penggunaan urine manusia dalam mengisolasi DNA manusia. Konsentrasi DNA yang dihasilkan dari 114 orang berkisar antara 33,2 - 529 ng/ $\mu$ L dengan nilai rata-rata 258,7 ng/ $\mu$ L dengan tingkat kemurnian rata-rata adalah 1.81. Selain protein, urine juga mengandung DNA yang diturunkan dari sel-sel epitel (*renal tubular, transitional urothelial dan squamous cells*), leukosit, dan *malignant cells* yang tergerus dan terbawa bersama urine (Bali, *et al.*, 2014).

#### **4.10. Konsentrasi dan Kemurnian DNA Hasil Isolasi Darah dan Feces Sapi Bali**

Konsentrasi DNA hasil isolasi dari sumber materi darah disajikan pada Gambar 4.14. Kisaran konsentrasi DNA darah adalah berkisar antara 10,075 – 23,075 ng/ $\mu$ L dengan nilai rata-rata 15,175 ng/ $\mu$ L (Lampiran 1), jauh lebih rendah dibandingkan hasil isolasi feces yang menunjukkan tingkat konsentrasi berkisar antara 50.825 – 110.925 ng/ $\mu$ L dengan nilai rata-rata 81.605 ng/ $\mu$ L (Gambar 4.15).

Konsentrasi DNA hasil isolasi DNA pada sapi bali ini jauh lebih rendah dibandingkan hasil penelitian Hidayati, *et al.* (2015) yang melaporkan bahwa konsentrasi DNA hasil isolasi dari darah pada sapi kuantan berkisar antara 27.45 – 121.45 ng/ $\mu$ L dan pada sapi pesisir berkisar antara 29.95 -97.45 ng/ $\mu$ L (Hidayati *et al.*, 2016). Konsentrasi DNA hasil isolasi darah untuk setiap individu bervariasi dipengaruhi oleh jumlah sel yang dikandung oleh sumber materi DNA, prosedur preparasi yang dilakukan, metode isolasi dan sterilitas alat dan ruangan.

Hasil uji t menunjukkan bahwa perbedaan sumber materi DNA berpengaruh nyata ( $P < 0.05$ ) terhadap konsentrasi DNA yang dihasilkan, dimana DNA hasil isolasi feces lebih tinggi dibandingkan DNA hasil isolasi darah (Lampiran 1). Hasil

penelitian ini berbeda nyata dengan pendapat Ghatak, *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa darah merupakan sumber materi yang terbaik dengan kisaran konsentrasi DNA hasil isolasi DNA adalah 57 – 94 ng/ $\mu$ L.



Keterangan : SB1 = Sapi bali 1; SB2= Sapi bali 2; SB3 = Sapi bali 3; SB4 = Sapi bali 4; SB5 = Sapi bali 5

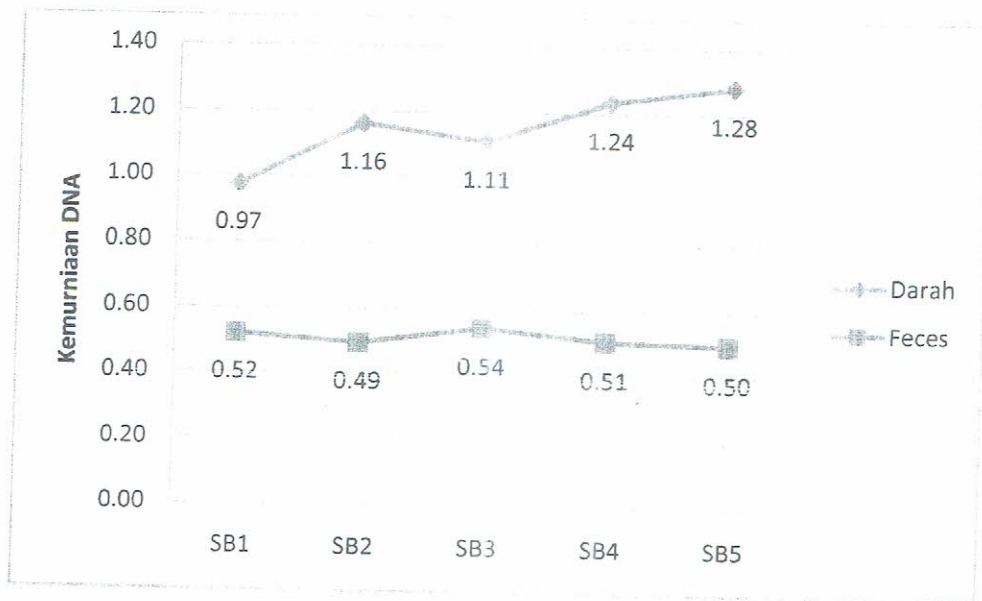
Gambar 4. 15. Konsentrasi DNA Hasil Isolasi dari Darah dan Feces Pada Sapi Bali

Konsentrasi DNA hasil isolasi yang berasal dari feces pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan hasil isolasi DNA dari feces gorilla, dimana konsentrasi DNA yang dihasilkan adalah 39.4 pg/ $\mu$ L dengan nilai kisaran 0 – 1315.5 pg/ $\mu$ L (Gambar 4.16). Konsentrasi DNA yang dihasilkan sangat tergantung pada metode preparasi sampel dan metode isolasi DNA yang dilakukan. Keberhasilan isolasi DNA ditentukan oleh metode preparasi dan tahapan-tahapan yang dilakukan pada proses isolasi mulai dari tahapan penghancuran sel (*lysis*), pemusnahan protein dan RNA dan pemurniaan DNA (Muladno, 2002).

Hasil kemurnian DNA sapi bali hasil isolasi dari sumber materi darah dan feces disajikan pada Gambar 4.15. Kisaran nilai kemurnian DNA dari darah berkisar antara 0.97-1.28 sedangkan dari feces berkisar antara 0.49 – 0.54. Nilai kemurnian DNA yang



didapatkan sangat rendah. Hal ini berkaitan dengan jumlah DNA yang dihasilkan relatif kecil. Muladno (2002) menyatakan bahwa apabila konsentrasi DNA yang diukur terlalu kecil, seringkali nilai rasio kemurnian sulit digunakan sebagai patokan dalam menentukan tingkat kemurniannya.



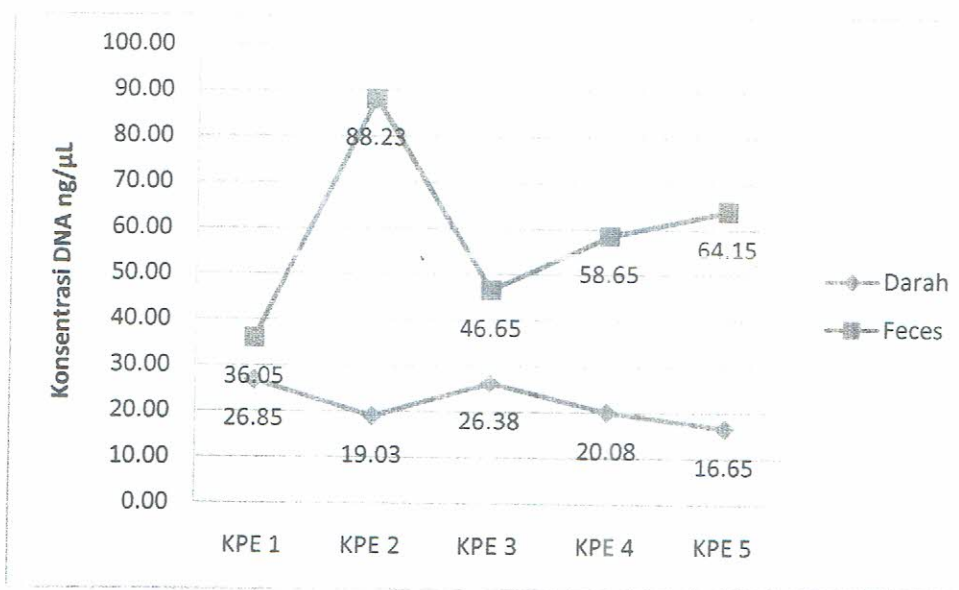
Keterangan : SB1 = Sapi bali 1; SB2= Sapi bali 2; SB3 = Sapi bali 3; SB4 = Sapi bali 4; SB5 = Sapi bali 5

Gambar 4. 16. Kemurnian DNA Hasil Isolasi dari Darah dan Feces Pada Sapi Bali

Kisaran kemurnian DNA yang ideal adalah berkisar antara 1.8-2.0. Nilai kemurnian DNA hasil isolasi pada sapi dan feces sapi bali lebih rendah dari yang dilaporkan Hidayati *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa kemurnian DNA sapi kuantan 1.64 – 1.81 dan sapi pesisir berkisar antara 1.71-1.80 dan kerbau lumpur berkisar antara 1.55 – 1.73 (Hidayati, *et al.* 2015a). Nilai kemurnian kecil dari 1.8 diduga disebabkan karena ddH<sub>2</sub>O terlalu banyak ditemukan pada DNA. Kesuksesan proses PCR ditentukan oleh akurasi jumlah DNA yang digunakan dalam proses PCR. Kisaran konsentrasi DNA yang biasa digunakan adalah 25 – 50 ng/μL (Hidayati, *et al.*, 2016).

#### 4.11. Konsentrasi dan Kemurnian DNA Hasil Isolasi Darah dan Feces Kambing Peranakan Ettawa

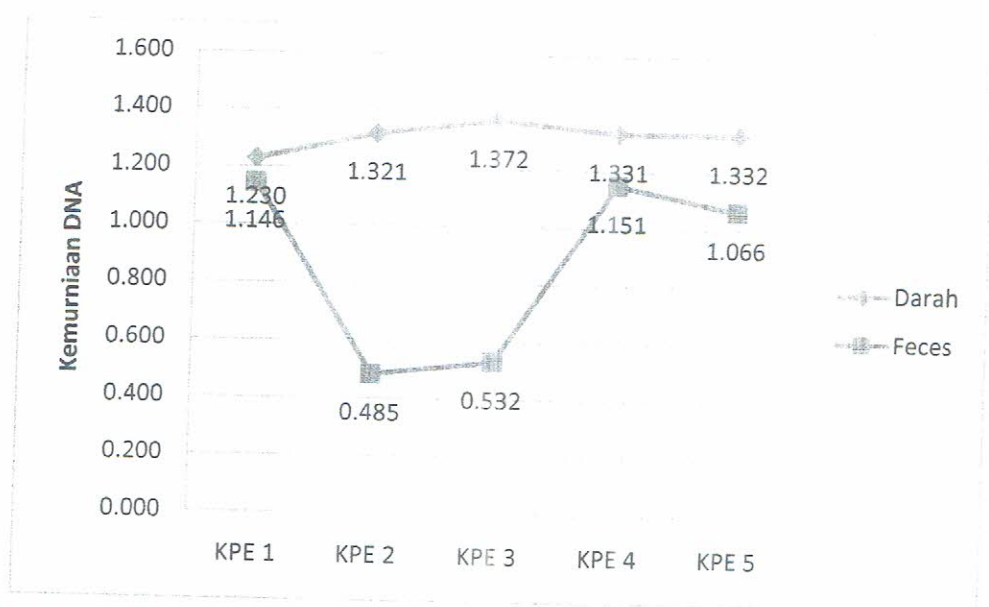
Pola yang sama juga ditemukan pada kambing PE. Konsentrasi DNA hasil isolasi dari sumber materi DNA feces ( 36.05 – 88.23 ng/ $\mu$ L) dengan rataa 58,74 ng/ $\mu$ L lebih tinggi dibandingkan darah (16.65 – 36.05 ng/ $\mu$ L) dengan nilai rataa 21.75 ng/ $\mu$ L (Gambar 4.17). Kemurnian DNA hasil isolasi darah pada kambing PE berkisar antara 1.23 – 1.37 dan hasil isolasi feces berkisar antara 0.485 – 1.151 (Gambar 4.18). Hasil uji t menunjukkan bahwa perbedaan sumber materi DNA berpengaruh nyata ( $p < 0.05$ ) terhadap konsentrasi dan kemurnian DNA hasil isolasi. Rangkuman konsentrasi dan kemurnian DNA hasil isolasi dari darah dan feces sapi bali dan kambing PE dapat dilihat pada Tabel 4.6.



Keterangan : KPE 1 = Kambing PE 1; KPE 2= Kambing PE 2; KPE 3 = Kambing PE 3; KPE 4 = Kambing PE 4; KPE 5 = Kambing PE 5

Gambar 4. 17. Konsentrasi DNA Hasil Isolasi dari Darah dan Feces Pada Sapi Bali





Keterangan : KPE 1 = Kambing PE 1; KPE 2= Kambing PE 2; KPE 3 = Kambing PE 3; KPE 4 = Kambing PE 4; KPE 5 = Kambing PE 5

Gambar 4. 18. Kemurniaan DNA Hasil Isolasi dari Darah dan Feces Pada Sapi Bali

Tabel 4.6. Konsentrasi dan Kemurniaan DNA Hasil Isolasi dari Darah dan Feces pada Sapi Bali dan Kambing Peranakan Ettawa

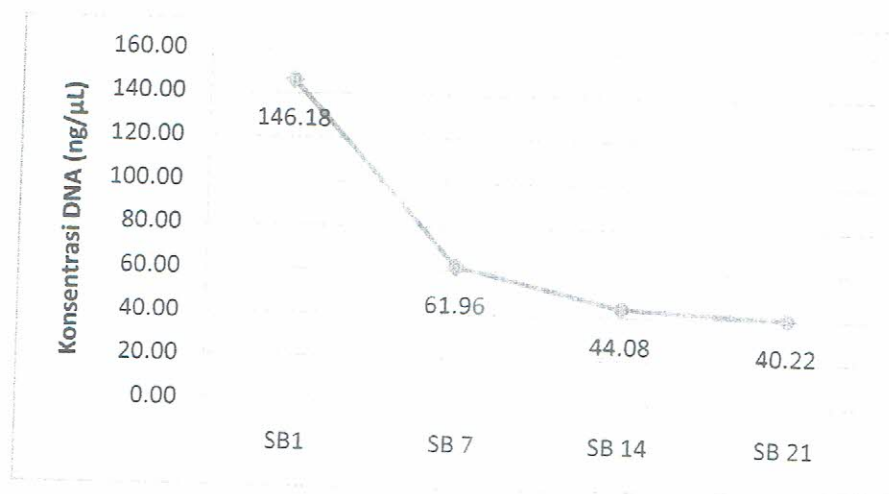
Species	Konsentrasi DNA (ng/ $\mu$ L)		Kemurniaan DNA	
	Darah	Feces	Darah	Feces
Sapi Bali	$15,175 \pm 5,056^b$	$81,605 \pm 26,65^a$	$1,154 \pm 0,120^a$	$0,513 \pm 0,020^b$
Kambing PE	$21,795 \pm 4,573^b$	$58,745 \pm 19,746^a$	$1,317 \pm 0,052^a$	$0,876 \pm 0,338^b$

Keterangan: superskrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda nyata pada taraf alfa 5% ( $P < 0.05$ )

#### 4.12. Konsentrasi dan Kemurniaan DNA Hasil Isolasi dari Feces Sapi Bali Dengan Lama Waktu Penyimpanan Yang Berbeda

Hasil uji spektrofotometri menunjukkan bahwa waktu penyimpanan sampel feces pada suhu  $5^{\circ}\text{C}$  selama 1 hari, 7 hari 14 hari dan 21 hari sapi bali sampai 21 hari dapat menurunkan konsentrasi DNA hasil isolasi (Gambar 4.19). Konsentrasi tertinggi ditunjukkan oleh waktu penyimpanan 1 hari yaitu berkisar antara  $146.175 \pm 145.360$  ng/ $\mu$ L, dan menurun pada penyimpanan 7 hari berkisar antara  $61.960 \pm 52.898$

ng/ $\mu$ L, terus menurun pada penyimpanan 14 hari ( $44.080 \pm 22.462$  ng/ $\mu$ L) dan 21 hari ( $40.220 \pm 29.595$  ng/ $\mu$ L).



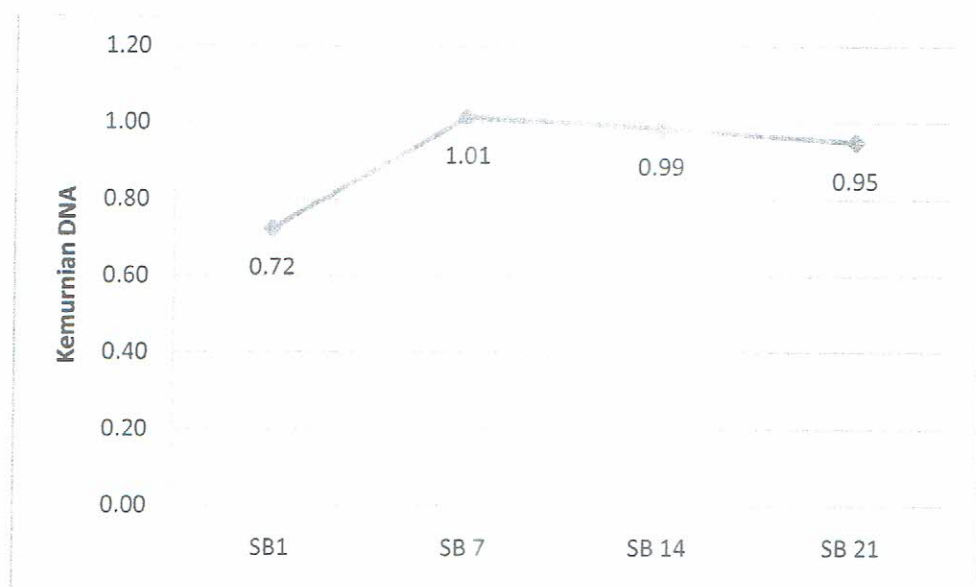
Keterangan : SB1 = Lama Penyimpanan 1 hari; SB2= Lama Penyimpanan 2 hari; SB3 = Lama Penyimpanan 3 hari; SB4 = Lama Penyimpanan 4 hari; SB5 = Lama Penyimpanan 5 hari

Gambar 4. 19. Konsentrasi DNA Hasil Isolasi dari Feces Sapi Bali Pada Lama Waktu Penyimpanan 1 hari, 7 hari, 14 hari dan 21 hari

Waktu simpan sampel feces berpengaruh nyata ( $P < 0.05$ ) terhadap tingkat kemurnian DNA. Kemurnian DNA dengan lama waktu simpan 1 hari adalah  $0.724 \pm 0.249$  dan meningkat pada waktu simpan 7 hari ( $1.015 \pm 0.268$ ), 14 hari ( $0.985 \pm 0.293$ ) dan 21 hari ( $0.949 \pm 0.248$ ) (Gambar 4.19). Rangkuman hasil uji t disajikan pada Tabel 4.7 dan hasil analisis disajikan pada Lampiran 3.

Konsentrasi DNA dari sampel feces yang disimpan selama 1 hari berbeda nyata ( $P < 0.05$ ) dengan lama simpan 7 hari, 14 hari dan 21 hari yang menunjukkan terjadinya penurunan konsentrasi DNA yang dihasilkan. Konsentrasi DNA dengan lama simpan feces 7 hari, 14 hari dan 21 hari menunjukkan tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ ) walaupun secara angka menunjukkan terjadinya penurunan (Gambar 4.20).





Keterangan : SB1 = Lama Penyimpanan 1 hari; SB2= Lama Penyimpanan 2 hari; SB3 = Lama Penyimpanan 3 hari; SB4 = Lama Penyimpanan 4 hari; SB5 = Lama Penyimpanan 5 hari

Gambar 4. 20. Konsentrasi DNA Hasil Isolasi dari Feces Sapi Bali Pada Lama Waktu Penyimpanan 1 hari, 7 hari, 14 hari dan 21 hari

Tabel 4.7. Hasil Uji t Lama Waktu Simpan Feces Terhadap Konsentrasi dan Kemurnian Hasil Isolasi DNA

Kode Sampel	Konsentrasi DNA	Keterangan	Kemurnian DNA	Keterangan
SB1 Vs SB7	$P < 0.05$	s	$P < 0.05$	s
SB1 Vs SB14	$P < 0.05$	s	$P < 0.05$	s
SB1 Vs SB21	$P < 0.05$	s	$P < 0.05$	s
SB7 Vs SB 14	$P > 0.05$	ns	$P > 0.05$	ns
SB7 Vs SB 21	$P > 0.05$	ns	$P > 0.05$	ns
SB14 Vs SB 21	$P > 0.05$	ns	$P > 0.05$	ns

Keterangan : s = berbeda nyata pada taraf alfa 5 % ( $P < 0.05$ ), ns = tidak berbeda nyata pada taraf alfa 5% ( $P > 0.05$ )

Pola yang sama juga ditemukan untuk tingkat kemurnian, dimana kemurnian DNA yang berasal dari feces yang disimpan selama 1 hari berbeda nyata ( $P < 0.05$ ) dengan lama simpan 7 hari, 14 hari dan 21 hari yang menunjukkan terjadinya peningkatan konsentrasi DNA yang dihasilkan. Kemurniaan DNA dengan lama simpan feces 7 hari, 14 hari dan 21 hari menunjukkan tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ )

walaupun secara angka menunjukkan terjadinya penurunan (Gambar 4.19). Penurunan konsentrasi DNA meningkatkan konsentrasi DNA yang dihasilkan.

Penyimpanan sumber materi DNA dalam waktu yang lama mengakibatkan terjadinya kerusakan struktur DNA. Kerusakan struktur DNA disebabkan adanya paparan yang abnormal seperti temperature yang tinggi sehingga dapat merusak ikatan Hidrogen yang *irreversible*. Rusaknya ikatan Hidrogen mengakibatkan kerusakan pasangan purin dan pirimidin pada DNA (Yudianto dan Sisпитasari, 2016). Nsubaga, *et al.* (2004), dua faktor utama yang mempengaruhi jumlah DNA yang dihasilkan adalah keberadaan/jumlah sel (DNA) yang ditemukan pada feces dan jumlah sel (DNA) yang ditemukan setelah koleksi dan penyimpanan. Dijelaskan juga bahwa faktor umur dan jenis kelamin tidak mempengaruhi jumlah DNA yang dihasilkan.

Terjadinya degradasi DNA selama proses penyimpanan juga dapat mempengaruhi konsentrasi DNA yang dihasilkan. Degradasi DNA dapat disebabkan karena adanya kerja dari enzim endonuklease akibat dari rendahnya temperature, konsentrasi garam yang tinggi dan proses pengeringan atau pengawetan sampel (Nsubaga, *et al.*, 2004). Beberapa bahan pengawet feces yang dapat digunakan adalah ethanol absolute 96%, alkohol 70, dan DETs. Frantzen, *et al.* (1998) merekomendasikan penggunaan buffer DETs (20% DMSO, 0.25M sodium-EDTA, 100 mM Tris, pH 7.5 dan NaCl sebagai pelarut) untuk penyimpanan feces baboon.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut;

1. Feces dapat dijadikan sebagai alternatif sumber materi DNA selain darah pada ternak sapi bali, kambing peranakan etawa dan kerbau lumpur, yang dibuktikan dengan isolasi berhasil dilakukan sedangkan untuk sampel urine belum berhasil dilakukan.
2. Konsentrasi DNA hasil isolasi dari sumber materi feces pada sapi bali (50.825 – 110.925 ng/ $\mu$ L) dan kambing peranakan etawa (36.05 – 88.23 ng/ $\mu$ L) lebih tinggi dibandingkan hasil isolasi dari darah sapi bali (10,075 – 23,075 ng/ $\mu$ L) dan darah kambing peranakan etawa (16.65 – 36,05 ng/ $\mu$ L).
3. Kemurnian DNA hasil isolasi dari sumber materi feces pada sapi bali (0.49 – 0.54) dan kambing peranakan etawa (0.485 – 1.151) lebih rendah dibandingkan hasil isolasi dari darah sapi bali (0.97 – 1.28) dan darah kambing peranakan etawa (1.23 – 1.372).
4. Konsentrasi DNA hasil isolasi dari feces sapi bali dan kambing peranakan etawa lebih tinggi dibandingkan dari darah namun tingkat kemurnian DNA yang dihasilkan dari darah lebih baik dibandingkan feces.
5. Lama penyimpanan feces sapi bali sampai 21 hari dapat menurunkan konsentrasi DNA dan meningkatkan tingkat kemurnian DNA yang dihasilkan.
6. Lama penyimpanan feces 1 hari pada suhu 5<sup>0</sup>C, memberikan konsentrasi yang tertinggi yaitu 146.175 ng/ $\mu$ L lebih tinggi daripada penyimpanan 7 hari (61.960 ng/ $\mu$ L), 14 hari (44.08 ng/ $\mu$ L) dan 21 hari (40.220 ng/ $\mu$ L).



Konsentrasi DNA dengan lama penyimpanan 7 hari, 14 hari dan 21 hari tidak berbeda walau secara angka menunjukkan penurunan konsentrasi

7. Lama penyimpanan feces 1 hari pada suhu  $5^{\circ}\text{C}$ , memberikan kemurnian DNA yang terendah yaitu 0.724 lebih rendah daripada penyimpanan 7 hari (1.015), 14 hari (0.985) dan 21 hari (0.949). Kemurnian DNA dengan lama penyimpanan 7 hari, 14 hari dan 21 hari tidak berbeda. Kemurnian DNA yang didapatkan dalam penelitian ini lebih rendah daripada nilai kemurnian DNA ideal yaitu berkisar antara 1.8-2.0.

## 5.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menemukan metode preparasi urine.
2. Perlu optimasi metode isolasi DNA yang tepat untuk meningkatkan nilai kemurnian DNA yang dihasilkan
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk membuktikan bahwa DNA yang dihasilkan benar dari DNA sapi bali, kambing peranakan etawa dan kerbau lumpur melalui *Polymerase Chain Reaction*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidin. 2002. *Pengemukan Sapi Potong*. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Bali, L., A. Diman., A. Bernard and N.H.C. Roosens. 2014. Comparative Study of Seven Commercial Kits for Human DNA Extraction From Urine Samples Suitable for DNA Biomarker- Based Public Health Studies. *J. Biomolecular Techniques* 25:96-110.
- Bandini, Y. 1999. *Sapi Bali*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Brown, T.A. 2007. *Genomes 3*. Garland Sci. New York dan London.
- Diyono, R. 2009. Karakteristik Ukuran Tubuh dan Polimorfisme Gen GH, GHRH dan PIT-1 Pada Populasi Kerbau Di Banten. Tesis. Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor.
- Factiyah, ELA. Rumingtyas, S. Widyarti, S. Rahayu. 2011. *Biologi Molekuler*. Erlangga. Jakarta.
- Frantzen, M.A., J.B.Silk, J.W.Hferguson, R.K.Wayne and M.H.Kohn. 1998. Empirical Evalution of Preservation Methods For Faecal DNA. *Molecular Ecology* 7: 1423-1428.
- Ghatak, S., R.B. Muthukumaran and S.K. Nachimuthu. 2013. A Simple Method of genomic DNA Extraction From Human Samples For PCR-RFLP Analysis. *J. Biomolecular Techniques* 24:224-231.
- Guntoro. 2002. *Membudidayakan Sapi Bali*. Kanisius. Yogyakarta.
- Hardjosoebroto, W. 1994. *Aplikasi Pemuliabiakan Ternak di Lapangan*. Grasindo. Jakarta.
- Hidayati, 2009. Pemanfaatan Ternak Kerbau. *Jurnal Penelitian dalam Proceeding Penelitian LPP UIN Suska Riau*.
- Hidayati dan A. Maarif. 2010. Comparison of Morphometric Swamp Buffalo at Age Lèves and Type of Sex Differences in Tenayan Raya District Pekanbaru City. Makalah Seminar Nasional Ruminansi. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Hidayati, J. Handoko dan Yendraliza. 2010. Kajian Keragaman Fenotipe dan Keragaman Genetik DNA Mikrosatelit dalam Hubungannya Terhadap Bobot Badan kerbau Lumpur (*Swamp buffalo*) di Kabupaten Kampar. Laporan Penelitian DIKTIS Kemenag RI.
- Hidayati, J. Handoko dan Yendraliza. 2011. Hubungan Bobot Badan dengan Keragaman Genetik DNA Mikrosatelit Kerbau Lumpur (*Swamp buffalo*) di Kabupaten Kampar Provinsi Riau. Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Aspek Zooteknis Untuk Mendukung Sumberdaya dan Ternak Lokal. Semarang 19-20 Oktober 2011. Hal. 183-188.



- Hidayati, C. Sumantri, R.R. Noor, R. Priyantodan S. Rahayu. 2014. Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in Exon 6 of Lecithin Cholesterol Acyltransferase (LCAT) Gene in Indonesian Local Sheeps. *Media Peternakan* 37 (2): 71-79
- Hidayati, R. Misrianti dan A. Ali. 2015a. Kajian Penelusuran Phylogenetic Ternak Lokal Riau Menggunakan Analisis DNA Barcoding. Laporan Penelitian. DIKTIS Kemenag RI.
- Hidayati, E. Saleh dan T. Aulawi. 2015b. Kajian Keragaman Gen BMPR-1B Pada Ayam Arab, Ayam kampung dan Ayam Ras Petelur Sebagai Langkah Awal Dalam Pembentukan Strain Ayam Petelur Lokal Unggul. Laporan Hasil Penelitian. Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN Suska Riau.
- Hidayati, C. Sumantri, R.R. Noor, R. Priyantodan S. Rahayu. 2015c. Single Nucleotide Polymorphisms of Lipoprotein Lipase Gene and Its Association With Marbling Quality in Local Sheeps. *JITAA* 40 (1): 1-10.
- Hidayati, R. Misrianti dan A. Ali. 2016. Phylogenetic Tree of Kuantan Cattle by DNA Barcoding. *JITV* 21(1): 41-48.
- Hilhorst, M., R. Theunissen, Henk Van Rie, Pieter Van Paasen and J.W.C. Tervaert. 2013. DNA extraction from long-term stored urine. *BMC Nephrology*. 14: 238. p.1-3.
- Kuchler, E.C., P.N. Tannure, P.F. Lotsch, T.S. Lopes, J.M. Granjeiro dan L.M.F. Amorin. 2012. Bucal cells DNA extraction to obtain high quality human genomic DNA Suitable for Polymorphisms Genotyping by PCR-RFLP and Real-Time PCR. *J. Appl Oral Sci.* 20(4): 467-471.
- Murphy, M.A., L.P. Waits, K.C. Kendall, S.K. Wasser, J.A. Higbee and R. Bodgen. 2002. An Evaluation of Long term Preservation Methods For Brown Bear (*Ursus arcos*). *Conservation Genetics*. 3:435-450.
- Muladno. 2002. *Seputar Teknologi Rekayasa Genetik*. Pustaka Wira Usaha Muda. Bogor.
- Nsubaga, A.M., M.M. Robbins, A.D. Roeder, P.A. Morin, .C. Boesch and L. Vigilant. 2004. Factors Affecting The Amount of Genomic DNA Extracted From Ape Faeces and Identification of An Improved Sample Storage Method. *Molecular Ecology* 13: 2089-2094. doi:10.1111/j.1365-294x.2004.02207.x.
- Takandjandji, M. dan R. Sawitri. 2015. Ukuran Morfometrik Banteng (*Bos javanicus* d'Alton, 1823) Untuk Menduga Bobot Badan. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. 12(1): 59-73.
- Sulandari, S., M.S.A. Zein, H. Sutrisno, A.B. Dharmayanthi, I. Natalia. 2013. Tahapan Kerja Dalam DNA Barcode dalam DNA Barcode Fauna Indonesia. M.S.A. Zein dan D.M. Prawiradilaga (Editor). Kencana. Jakarta.
- Supeni, T., Mintje SL Tobando, Y.P. Talumewo. 1996. *Biologi SMU Jilid 3A*. Erlangga. Jakarta.



- Sutrisno, H., M.S.A. Zein dan S. Sulandari. 2013. DNA Barcode *dalam* DNA BARCODE FAUNA Indonesia. M.S.A. Zein dan D. Prawiradilaga (Editor). Kencana. Jakarta.
- Verkuil, E.P., A. Belkumdan J.P. Hays. 2007. Principles and Technical Aspects of PCR Amplification. Springer. Netherlands.
- Yudianto, A dan Y.E.Sispitasari. 2016. Isolasi DNA dari Bercak Urine Manusia Sebagai Bahan Alternatif Pemeriksaan Identifikasi Personal. Media Pharmaceutica Indonesiana. 1(1): 53-61.
- Yuwono, T. 2006. Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction. Andi Yogyakarta.
- Zulbardi, M. dan Kusumaningrum, D.A. 2005. Penampilan Produksi Ternak Kerbau Lumpur (Bubalus bubalus) di Kabupaten Brebes JawaTengah. [www.Google.com](http://www.Google.com). diakses 17 Desember 2009